



Návrh konstrukčního řešení 3D tiskárny pro tisk bio gelu

Diplomová práce

Studijní program: N2301 – Strojní inženýrství
Studijní obor: 2302T010 – Konstrukce strojů a zařízení
Autor práce: **Bc. Jakub Haluška**
Vedoucí práce: Ing. Petr Zelený, Ph.D.





The design solution of the 3D printer for bio gel printing

Master thesis

Study programme: N2301 – Mechanical Engineering
Study branch: 2302T010 – Machine and Equipment Systems

Author: **Bc. Jakub Haluška**
Supervisor: Ing. Petr Zelený, Ph.D.



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jakub Haluška**

Osobní číslo: **S16000344**

Studijní program: **N2301 Strojní inženýrství**

Studijní obor: **Konstrukce strojů a zařízení**

Název tématu: **Návrh konstrukčního řešení 3D tiskárny pro tisk bio gelu**

Zadávací katedra: **Katedra výrobních systémů a automatizace**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Hlavním cílem této práce je navržení vhodné technologie a provedení konstrukčního návrhu 3D tiskárny pro tisk bio gelu.

Jako základ pro realizaci bude použita 3D tiskárna Prusa i3 MK3. Bude navržen extrudér, který bude schopný vytlačovat bio gel (tento gel v budoucnu bude nosič bakterií k dalšímu využití). U tiskárny bude vhodné zachovat možnost tisknout z filamentu (výměnný extrudér nebo dvojité extrudér). Extrudér pro bio gel bude samostatně řízen Arduinem (úprava signálu pro krokový motor extrudéru, zrychlení zpomalení, osazení koncových spínačů na extrudér atd.). S největší pravděpodobností bude gel vytvrditelný UV světlem, takže zřejmě bude implementována nějaká forma UV osvětlení (zřejmě LED diody). Bude nutné provést úpravy v generovaném G kódu, stejně tak vytvořit nové profily pro slicer. Firmwareové změny samotné tiskárny by měly být co nejmenší, tak aby byla stále zachována původní funkce.

Doporučené metody pro vypracování:

1. Provést rešerši současného stavu technologií 3D tisku biologických materiálů.
2. Provést studii stavu výzkumu v této oblasti.
3. Na základě rešerši a studie navrhnout vhodnou technologii 3D tisku bio gelu.
4. Provést konstrukční návrh řešení 3D tiskárny pro tisk bio gelu.
5. Realizovat konstrukční řešení 3D tiskárny pro tisk bio gelu.
6. Optimalizovat tiskové parametry pro tisk konkrétního materiálu.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Rozsah pracovní zprávy: **60 stran**
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**
Seznam odborné literatury:

- [1] SRIVATSAN, T. S. a T. S. SUDARSHAN. Additive manufacturing: innovations, advances, and applications. Boca Raton: Taylor Francis, 2016. ISBN 9781498714785.
- [2] GEBHARDT, A. Understanding additive manufacturing: rapid prototyping, rapid tooling, rapid manufacturing. Munich: Hanser Publishers, 2011. ISBN 978-1-56990-507-4.
- [3] CHUA, Ch. K., K.F. LEONG. 3D printing and additive manufacturing: principles and applications. Fourth edition of Rapid prototyping: principles and applications. New Jersey: World Scientific, 2015. ISBN 978-981-4571-40-1.
- [4] Wohlers Report 2016: 3D printing and additive manufacturing state of the industry: annual worldwide progress report. Fort Collins: Wohler Associates, 2016. ISBN 978-0-9913332-2-6.
- [5] BURKE, M., B. M. CARTER a A. W. PERRIMAN. Bioprinting: uncovering the utility layer by layer. Journal of 3D Printing in Medicine. 2017, 1(3) s. 165-179. ISSN 2059-4755. Dostupný také z:
<https://doi.org/10.2217/3dp-2017-0006>.

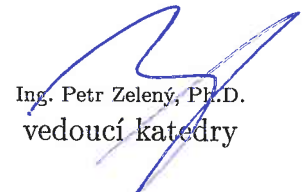
Vedoucí diplomové práce: **Ing. Petr Zelený, Ph.D.**
Katedra výrobních systémů a automatizace

Konzultant diplomové práce: **Adolf Krige**
Lulea University of Technology

Datum zadání diplomové práce: **15. listopadu 2018**
Termín odevzdání diplomové práce: **15. května 2020**


prof. Dr. Ing. Petr Lenfeld
děkan




Ing. Petr Zelený, Ph.D.
vedoucí katedry

V Liberci dne 15. listopadu 2018

Prohlášení

Byl jsem seznámen s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Diplomovou práci jsem vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že texty tištěné verze práce a elektronické verze práce vložené do IS STAG se shodují.

25. 4. 2019

Bc. Jakub Haluška

Poděkování

Na tomto místě bych rád využil možnosti poděkovat mé rodině, přítelkyni a přátelům, za podporu jak v průběhu celého dosavadního studia, tak při samotném zpracování této závěrečné práce. Další dík patří Adolfu Krigemu, za odborné konzultace a rady v průběhu řešení práce. V neposlední řadě velký dík patří vedoucímu práce panu Ing. Petru Zelenému, Ph.D za odborné rady a vedení při řešení práce.

Abstrakt

Diplomová práce pojednává o 3D tisku bio gelu. V první části je uveden přehled technologií 3D bio tisku, včetně jejich aplikací a dostupných 3D bio tiskáren. Druhá část popisuje návrh vlastního řešení pro konkrétní aplikaci 3D bio tisku – tisku bio gelu, obsahujícího živé bakterie *Geobacter sulfurreducens*, na grafitové elektrody. Řešení je realizováno přestavbou komerčně dostupné 3D tiskárny Prusa I3 MK3. Součástí návrhu je i návrh řízení tiskárny. V závěru je popsána optimalizace tiskových parametrů a jsou provedeny zkušební výtisky.

Klíčová slova:

3D tiskárna, 3D bio tisk, bio gel, Prusa I3

Abstract

This diploma thesis describes the 3D bio gel printing. In the beginning, the current state of the art of 3D bioprinting technology is described. The hardware and software design of the device for a specific 3D bioprinting task is shown in the second part. The task is to print out the bio gel containing the life bacteria - *Geobacter sulfurreducens* on a graphene electrode surface. The designed 3D bioprinter is based on Prusa I3 MK3 3D printer. Finally, the printing parameters are optimized and the 3D bio prints itself are presented in the conclusion.

Keywords:

3D printer, 3D bioprinting, bio gel, Prusa I3

Obsah

1	Úvod do řešeného úkolu	16
2	Cíl diplomové práce	18
3	Technologie 3D tisku	18
3.1.1	RepRap projekt	21
4	Metody 3D Tisku biologických materiálů	21
4.1	Inkoustový 3D bio tisk (Inkjet)	23
4.2	Laserem asistovaný 3D bio tisk (LAD)	23
4.3	Stereolitografický 3D bio tisk (SLA)	24
4.4	Extrusivní 3D bio tisk (FDM)	24
4.4.1	FRESH 3D bio tisk	26
5	Aplikace 3D bio tisku	27
6	3D bio tiskárny	29
6.1	EnvisionTec 3D-Bioploter	29
6.2	Cellink BIO X	30
6.3	Alternativy komerčních 3D bio tiskáren	32
6.3.1	Replistruder	33
6.3.2	LVE extrudér	34
7	Návrh 3D tiskárny pro tisk bio gelu	35
7.1	Tiskový materiál	36
7.2	Okrajové podmínky návrhu	36
7.3	3D tiskárna Prusa I3 MK3	37
8	Koncepce řešení přestavby 3D tiskárny	37
8.1	Volba metody vytlačování bio gelu	38
8.2	Volba umístění gelového extrudéru vůči tiskárně	39
8.3	Zvolený koncept řešení přestavby tiskárny	40
9	Návrh extrudéru pro vytlačování bio gelu	40
9.1	Výpočet potřebného výkonu k vytlačování bio gelu	41
9.2	Motor NEMA 17	41
9.3	Návrh převodovky	42
9.4	Převod rotačního pohybu na lineární	43
9.4.1	Výpočet mechanismu gelového extrudéru	44

9.5	Návrh radiálních ložisek	45
9.6	Návrh lineárního vedení	47
9.7	Konstrukce gelového extrudéru	49
9.8	Upínání stříkaček do gelového extrudéru	50
9.9	Koncové snímače v mezních polohách zdvihu gelového extrudéru	51
9.10	Uchytení trysky pro tisk bio gelu na ose X tiskárny Prusa I3 MK3	52
9.11	Montáž gelového extrudéru na rám tiskárny Prusa I3 MK3	53
9.12	Vedení bio gelu	53
9.13	Příslušenství gelového extrudéru	55
10	Návrh přídatné elektronické sestavy	57
10.1	Řídící deska tiskárny Prusa I3 MK3 Einsy-Rambo	59
10.2	Volně programovatelná deska Arduino UNO	59
10.3	Rozšiřující desky pro k desce Arduino UNO	62
10.3.1	Reléová rozšiřující deska	62
10.3.2	Prototypová rozšiřující deska	63
10.4	Osazení tiskárny přídatnými spínači	65
10.5	UV LED pro zesíťování bio gelu	65
10.6	Modifikace tiskárny pro realizaci tisku bio gelu	66
10.6.1	Modifikace firmware tiskárny	66
10.6.2	Modifikace hardware	67
10.7	Funkcionalita přestavěné tiskárny pro tisk bio gelu	69
11	Příprava dat a tisk bio gelu	70
11.1	Program pro generování řídicího kódu - Slic3r PE	70
11.1.1	Generování řídicího kódu	71
11.2	Tisk bio gelu	72
12	Testování a optimalizace tiskových parametrů bio gelu	73
13	Realizované tisky bio gelu	75
14	Závěr	79

Seznam obrázků

Obr. 1 Automobilový disk společnosti HRE Performance, jehož střed byl vytištěn metodou SLM [2].....	16
Obr. 2 3D bio tisk modelu lidské tváře [4]	17
Obr. 3 Model prostorové struktury pro tisk na elektrody	18
Obr. 4 Komplexní objekt zhotovený 3D tiskem [6]	19
Obr. 5 Metody 3D tisku. (A) FDM; (B) DIW; (C) SLA; (D) DLP; (E) LOM; (F) SLS a SLM; (G) Polyjet; (H) 3DP [1].....	20
Obr. 6 Technologie 3D bio tisku. Inkoustový bio tisk (A, B), FDM bio tisk (C, D) LAD bio tisk (E), Stereolitografický bio tisk (F) [13]	22
Obr. 7 Kancelářská tiskárna HP 660C přestavěná pro potřeby 3D bio tisku [15].....	23
Obr. 8 Základní metody zesíťování extrudovaného bio inkoustu [19].....	25
Obr. 9 Princip FRESH metody 3D bio tisku (A), Průběh FRESH 3D bio tisku (B) [22]	26
Obr. 10 3D tisk asymetrických srdečních chlopní. 3D modely pro tisk (A, B) a realizované výtisky (C) [24]	28
Obr. 11 3D bio tisk biofilmu na tvář panenky. Přítomnost bakterií <i>Acetobacterxylium</i> je zvýrazněna UV světlem [25]	29
Obr. 12 3D bio tiskárna Envisiontech 3D –bioploter Manufacturer series [28].....	30
Obr. 13 3D bio tiskárna Cellink BIO X [30]	31
Obr. 14 Přehled tiskových hlav pro tiskárnu Cellink BIO-X [30].....	32
Obr. 15 Open-source 3D bio tiskárna navržená (A) a realizovaná (B) na univerzitě v Torontu [31].....	32
Obr. 16 Gelový extrudér Replistruder [32].....	33
Obr. 17 3D Tiskárna LulzBot Mini2 osazená gelovým extrudérem Replistruder [33] ..	34
Obr. 18 Gelový extrudér LVE (bez spojovacího materiálu, motoru a stříkačky) [34] ...	34
Obr. 19 3D tiskárna Pritnrbot Simple Metal, osazená LVE gelovým extrudérem, připravená pro tisk FRESH metodou [34]	35
Obr. 20 3D tiskárna Prusa I3 MK3 [36]	37
Obr. 21 Principy vytlačování bio gelu, vytlačování pneumatickým pístem (A), mechanickým pístem (B) a šnekem (C) [12]	38
Obr. 22 Možnosti umístění gelového extrudéru vůči 3D tiskárně [21, 32, 34]	40

Obr. 23 Schéma experimentu pro zjištění potřebné síly k vytlačování gelu	41
Obr. 24 Unipolární (A) a Bipolární (B) zapojení krokového motoru včetně možného barevného značení vodičů [39]	42
Obr. 25 Převodové soukolí. Pastorek 13z a hnané kolo 47z.....	43
Obr. 26 Osazení slideru maticemi.....	43
Obr. 27 Realizace převodu rotačního pohybu na lineární	44
Obr. 28 Ložisko SKF 607-2RSL včetně základních rozměrů [45].....	45
Obr. 29 Schéma k výpočtu reakcí v ložiskách od normálové síly oz. kola	46
Obr. 30 Snímek z kalkulátoru SKF pro ověření životnosti ložisek. Tabulka vstupních hodnot a výsledků [45]	47
Obr. 31 Lineární vedení ve formě lineárního kuličkového (A) a kluzného (B) ložiska [46, 47].....	48
Obr. 32 Lineární vedení na navrženém gelovém extrudéru.....	48
Obr. 33 Gelový extrudér; 1-tělo extrudéru; 2-kuličkové ložisko; 3-vodící tyče; 4-čelo extrudéru; 5-hnané kolo; 6-manuální kolo; 7-závitová tyč; 8-slider; 9-kryt převodovky; 10-pastorek; 11-motor NEMA 17; 12-držák motoru	49
Obr. 34 Šroubový spoj s využitím slotu pro matici	50
Obr. 35 Injekční stříkačka (20 ml) připravená k upnutí do gelového extrudéru	50
Obr. 36 Proces upínání stříkačky. Zasunutí do drážek (A) a utažení křídlatých šroubů DIN316-M3x20 (B)	51
Obr. 37 Nastavení pozice koncových spínačů	52
Obr. 38 Sestava extrudéru pro tisk plastového filamentu. Modifikace pro umístění trysky gelového tisku (A), původní varianta (B)	53
Obr. 39 Detail montáže gelového extrudéru na rám tiskárny Prusa I3 MK3. Přední (A) zadní (B) pohled.....	53
Obr. 40 Komponenty vedení bio gelu. Stříkačka NORM-JECT (A) Luer-Lock fitinka FTL210-1 (B), Luer-Lock fitinka MTLL210-2 [48, 49]	54
Obr. 41 Řada trysek s Luer-lock závitem společnosti METCAL.....	54
Obr. 42 Barevné rozlišení a rozměry METCAL trysek [50]	55
Obr. 43 Podložka tiskárny Prusa I3 MK3 osazená upínacími dílci pro uchycení Petriho misek nebo elektrod	55
Obr. 44 Pouzdro elektroniky osazené na tiskárně Prusa I3 MK3	56
Obr. 45 Tiskárna Prusa I3 MK3 osazená dvěma gelovými extrudéry a příslušenstvím. 57	

Obr. 46 Schéma el. zapojení jednotlivých komponent včetně toku signálů. Modrá barva – ovládací logika, červená barva – silové zapojení	58
Obr. 47 Řídící deska Einsy-Rambo, tiskárny Prusa I3 MK3 s vyznačením pinů P76 [53].....	59
Obr. 48 Programovatelná deska Arduino UNO [54]	60
Obr. 49 Programovací prostředí Arduino IDE s ukázkou řídicího programu	61
Obr. 50 Releová rozšiřující deska Seed Studio[55].....	62
Obr. 51 Zapojení krokových motorů s reléovou deskou	63
Obr. 52 Prototypová rozšiřující deska Adafruit [56]	63
Obr. 53 Návrh osazení prototypové desky komponenty (A). Popis jednotlivých pinů pro připojení externích spínačů (B).....	64
Obr. 54 Přídavné spínače na konci osy X (A) a na konci osy Y (B) tiskárny Prusa I3 MK3	65
Obr. 55 UV LED MTSM365UV-D5120 (A), LED driver LDD 50LW (B) [57, 58].....	66
Obr. 56 Osazení UV LED (A) a LED driveru (B) na tiskárně	66
Obr. 57 Úprava firmwaru tiskárny.....	67
Obr. 58 Schéma konektorů propojujících SmartController a tiskárnu Prusa I3 MK3 [61]	68
Obr. 59 Realizace zapojení dálkového ovládání tlačítka.....	68
Obr. 60 Výběr tiskových profilů pro tisk gelu v programu Slic3r PE	70
Obr. 61 Ukázka vlastních sekvencí G-kódu v programu Slic3r PE.....	71
Obr. 62 Vygenerované tiskové vrstvy pro tisk bio gelu v programu Slic3r PE	72
Obr. 63 Manuální kolo pro ruční pohyb slideru	72
Obr. 64 Testování parametru flow rate pro nastavení optimálního parametru Extrusion multiplier.....	74
Obr. 65 Testování výšky vrstvy v rozmezí 0-3mm	74
Obr. 66 3D model raketoplánu pro testovací tisky	75
Obr. 67 Zkušební výtisk modelu raketoplánu z jednoho materiálu.....	76
Obr. 68 Průběh tisku modelu raketoplánu ze dvou materiálů (žlutá a zelená)	76
Obr. 69 Model prostorové struktury k tisku na povrch elektrody	77
Obr. 70 Průběh tisku bio gelu na grafitovou elektrodu.....	77
Obr. 71 Realizovaný tisk na povrch grafitové elektrody	78
Obr. 72 Realizovaná dvouextruderová tiskárna pro tisk bio gelu.....	81
Obr. 73 Tiskárna Prusa I3 MK, modifikovaná pro tisk bio gelu, v anaerobním boxu ...	81

Seznam tabulek

Tab. 1 Přehled metod 3D bio tisku [12].....	22
Tab. 2 Přehled možných medicínských aplikací 3D bio tisku včetně metod a materiálů. [17, 23].....	27
Tab. 3 Parametry kokového motoru NEMA 17 17H2A8423 [40]	42
Tab. 4 Parametry závitu M5 [43].....	44
Tab. 5 Parametry desky Arduino UNO[54].....	60
Tab. 6 Popis využití pinů na desce Arduino UNO	61
Tab. 7 Popis funkce jednotlivých pinů osazené protoypové desky	64
Tab. 8 Popis funkcionality tiskárny	69

Seznam použitého značení

Značka	Název	Jednotka
i	Převodový poměr	-
F_v	Síla potřebná k vytlačování bio gelu	N
F_{ok}	Obvodová síla na hnaném kole	N
F_N	Normálová síla od ozubení	N
R_a/R_b	Reakce v ložiskách	N
m_c	Celková hmotnost závaží	kg
M_{kl}	Krouticí moment na pastorku	Nm
M_{k2}	Krouticí moment na hnaném kole	Nm
M_{km}	Krouticí moment na matici	Nm
s	Stoupání závitu	mm
α	Vrcholový úhel závitu	°
γ	Úhel stoupání závitu	°
φ	Třecí úhel závitu	°
D	Roztečný průměr hnaného kola	mm
α_k	Úhel profilu zubů	°
β_k	Úhel sklonu zubů	°
$L10h$	Životnost ložiska	h
E_m	Extrusion multiplier	-
fr	Flow rate	-

Seznam zkratk

3D	Trojrozměrný objekt
3DP	Metoda 3D tisku „Binder Jetting“
DIW	Metoda 3D tisku „Direct Ink Writting“
DLP	Metoda 3D tisku „Digital Light Processing“
FDM	Metoda 3D tisku „Fused Material Deposition“
FRESH	Metoda 3D bio tisku „Freeform Reversible Embedding of Suspended Hydrogels“
FS	Pyrogenní oxid křemičitý
G	Birminghamský gauge, jednotka rozměru injekčních jehel
HA	Kyselina hyaluronová
k-CA	Karagenan
LAD	Metoda 3D bio tisku „Laser Assisted Deposition“
LCD	Display z tekutých krystalů
LED	Elektroluminiscenční dioda „Light-Emitting Diode“
LOM	Metoda 3D tisku „Object Manufacturing“
LVE	Velkoobjemový extrudér „Largre Volume Extruder“
PETG	Polyethylentereftalát glykol
PLA	Polymléčná kyselina
Polyjet	Metoda 3D tisku „Photo polymer jetting“
RGB	Červená, zelená, modrá „Red, Green, Blue“
SLA	Stereolitografie – metoda 3D tisku
SLS	Metoda 3D tisku „Selective Laser Sintering“
SLM	Metoda 3D tisku „Selective Laser Melting“
UV	Ultrafialové záření

1 Úvod do řešeného úkolu

Současné trendy vývoje výrobních technologií ukazují na stále větší důraz na aditivní způsoby výroby, jejichž hlavní výhody oproti konvenčním strojům jsou redukce odpadního materiálu na minimum a vysoká pružnost výroby. Hlavním zástupcem aditivních technologií jsou metody 3D tisku. Existuje několik základních metod 3D tisku, jako je FDM (Fused Deposition Material), SLS (Selective Laser Sintering), SLM (Selective Laser Melting) a SLA (Stereolitografie) [1].

První jmenovaná metoda, tedy FDM je již velice dostupná a hojně využívána jak v průmyslu při prototypové nebo kusové výrobě, tak v domácnostech u amatérských uživatelů. Ostatní jmenované metody jsou používány spíše v profesionálních aplikacích, kde je kladen vysoký důraz na kvalitu tisku, povrchu a větší rozsah tisknutelných materiálů. Příkladem může být disk automobilu (Obr. 1), od firmy HRE Performance, který byl vytištěn metodou SLM z titanového prášku [2].



Obr. 1 Automobilový disk společnosti HRE Performance, jehož střed byl vytištěn metodou SLM [2]

Vedle výše zmíněných průmyslových technologií se metody 3D tisku používají, nebo se testuje jejich použití, i v jiných odvětvích. Jedná se například o potravinářství, kde se tiskne z čokolády. Zde se zpravidla využívají modifikované FDM 3D tiskárny, kde je plastový filament nahrazen pastou, která je následně extrudována [3].

Dalším velice progresivním odvětvím je použití 3D tiskáren pro tisk biologických materiálů. V současné době se zkoumají možnosti využití těchto aplikací v medicíně, farmacii a biotechnologii. Tyto aplikace se souhrnně nazývají 3D bio tisk. Jako příklad

lze uvést tisk modelu masky člověka (Obr. 2), která obsahuje kožní buňky, a mohla by být použita jako náhrada kůže v případě zranění [4].

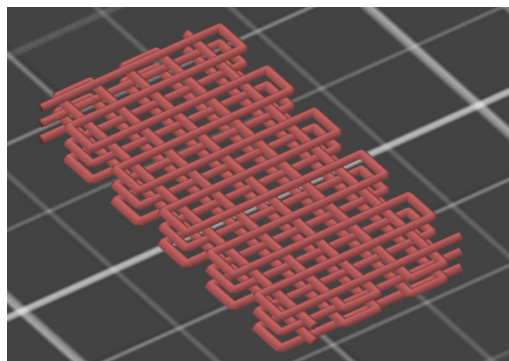


Obr. 2 3D bio tisk modelu lidské tváře [4]

V současné době jsou na trhu pouze relativně drahá řešení zabývající se 3D bio tiskem, která jsou zaměřena především na medicínské aplikace. Z tohoto důvodu je tato diplomová práce zaměřena na návrh a výrobu, cenově dostupného řešení pro 3D tisk bio gelu v biotechnologii.

2 Cíl diplomové práce

Cílem této práce je návrh řešení 3D tiskárny pro realizaci 3D tisku prostorové struktury z bio gelu, na povrch grafitové elektrody (Obr. 3). Gel použitý v této aplikaci je na bázi kyseliny hyaluronové a obsahuje živé bakterie *Geobacter sulfurreducens*. Elektroda s nanesenou bio gelovou strukturou bude následně umístěna do bio-reaktoru, kde bude zkoumán vliv imobilizace buněk na jejich životaschopnost a produktivitu.



Obr. 3 Model prostorové struktury pro tisk na elektrody

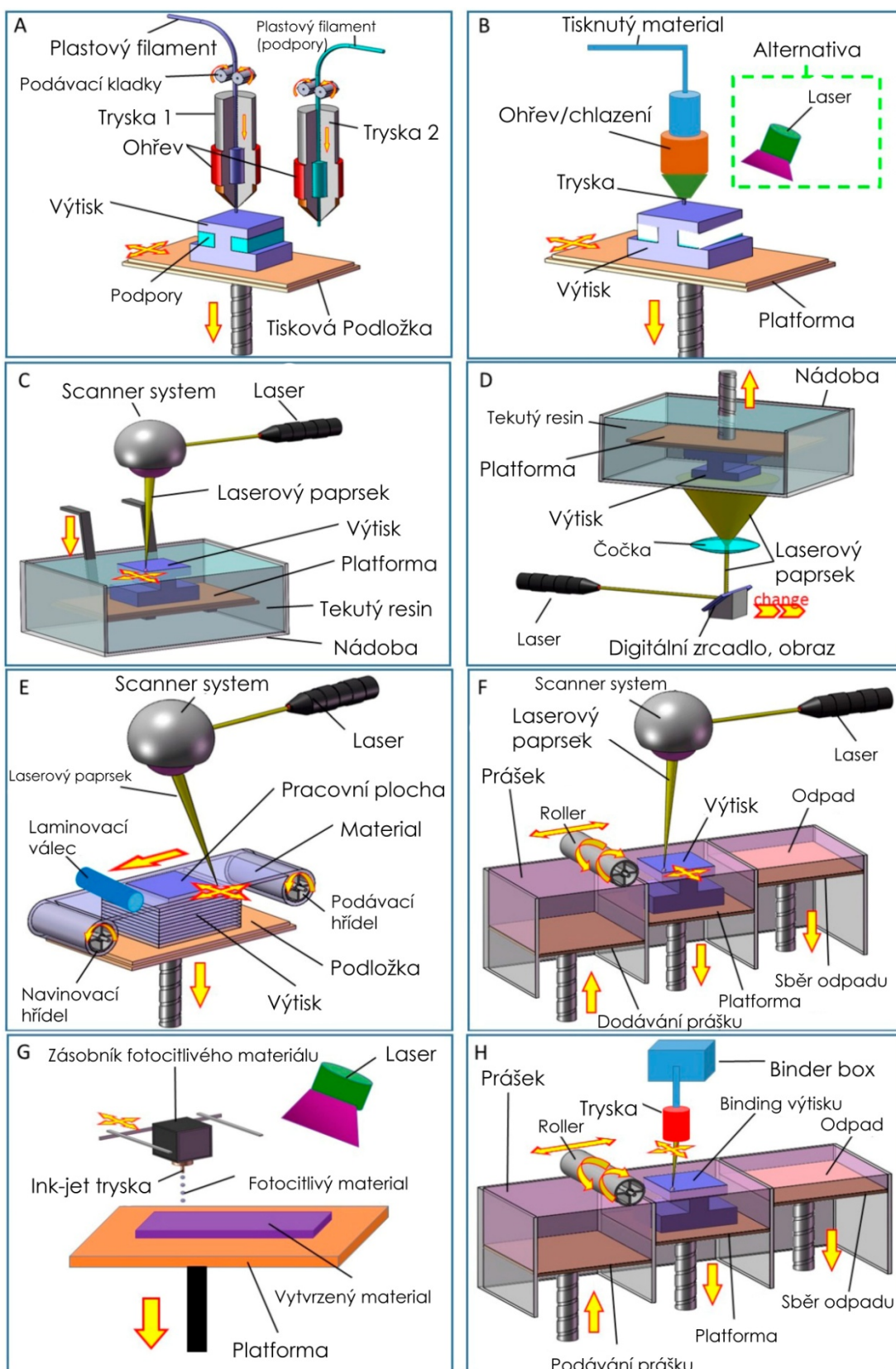
3 Technologie 3D tisku

Technologie 3D tisku je aditivní výrobní technologie. Jedná se o proces výroby komplexních třírozměrných objektů z různých materiálů. Základem pro 3D tisk je digitální 3D model, který je specializovaným softwarem nařezán na jednotlivé vrstvy. Tyto souvislé vrstvy materiálu jsou potom poskládány na sebe, až do dokončení výroby objektu. Jedná se tedy o zcela opačnou filosofii výroby, než jakou mají konvenční technologie jako je soustružení a frézování. Nedochází zde k výrobě z polotovaru odebráním materiálu, ale jeho přidáváním. Díky tomu je 3D tisk materiálově efektivnější, a umožňuje výrobu komplexních objektů, které by nebylo možné vyrobit konvenčními technologiemi. Příklad takového výrobku je na Obr. 1. Nevýhody 3D tisku oproti konvenčním technologiím jsou nízká rychlost, tedy produktivita výroby, a dále neizotropní vlastnosti vytištěného materiálu [5].



Obr. 4 Komplexní objekt zhotovený 3D tiskem [6]

Existuje celá řada metod 3D tisku, které se odlišují použitým materiálem a jeho formou (prášek, filament, tekutina) a principem jeho nanášení. Obr. 5 (A) zobrazuje princip metody FDM (Fused Material Deposition), Obr. 5 (B) princip metody DIW (Direct Ink Writting), Obr. 5 (C) princip metody SLA (Sterelolitografie), Obr. 5 (D) princip metody DLP (Digital Light Processing), Obr. 5 (E) princip metody LOM (Laminated Object Manufacturing), Obr. 5 (F) princip metod SLS/ SLM (Selective Laser Sintering/Melting), Obr. 5 (G) princip metody Polyjet (Photo polymer jetting) a nakonec Obr. 5 (H) zobrazuje princip metody 3DP (Binder jetting) [1].



Obr. 5 Metody 3D tisku. (A) FDM; (B) DIW; (C) SLA; (D) DLP; (E) LOM; (F) SLS a SLM; (G) Polyjet; (H) 3DP [1]

3.1.1 RepRap projekt

V roce 2005 doktor Adrian Bowyer, na University of Bath, založil projekt RepRap. Jde o ideu FDM 3D tiskárny, která bude umět vytisknout co nejvíce vlastních součástí. Od začátku byl projekt volně šiřitelný (open-source), což umožnilo zapojit se do spolupráce nadšencům z celého světa. Díky tomu jsou nyní RepRap tiskárny nejrozšířenějším druhem tiskáren celosvětově. Na základech RepRap tiskáren vznikly všechny dnešní známé FDM tiskárny používané v amatérském a polo profesionálním segmentu, jako je Prusa I3, Ultimaker a další [7, 8].

4 Metody 3D Tisku biologických materiálů

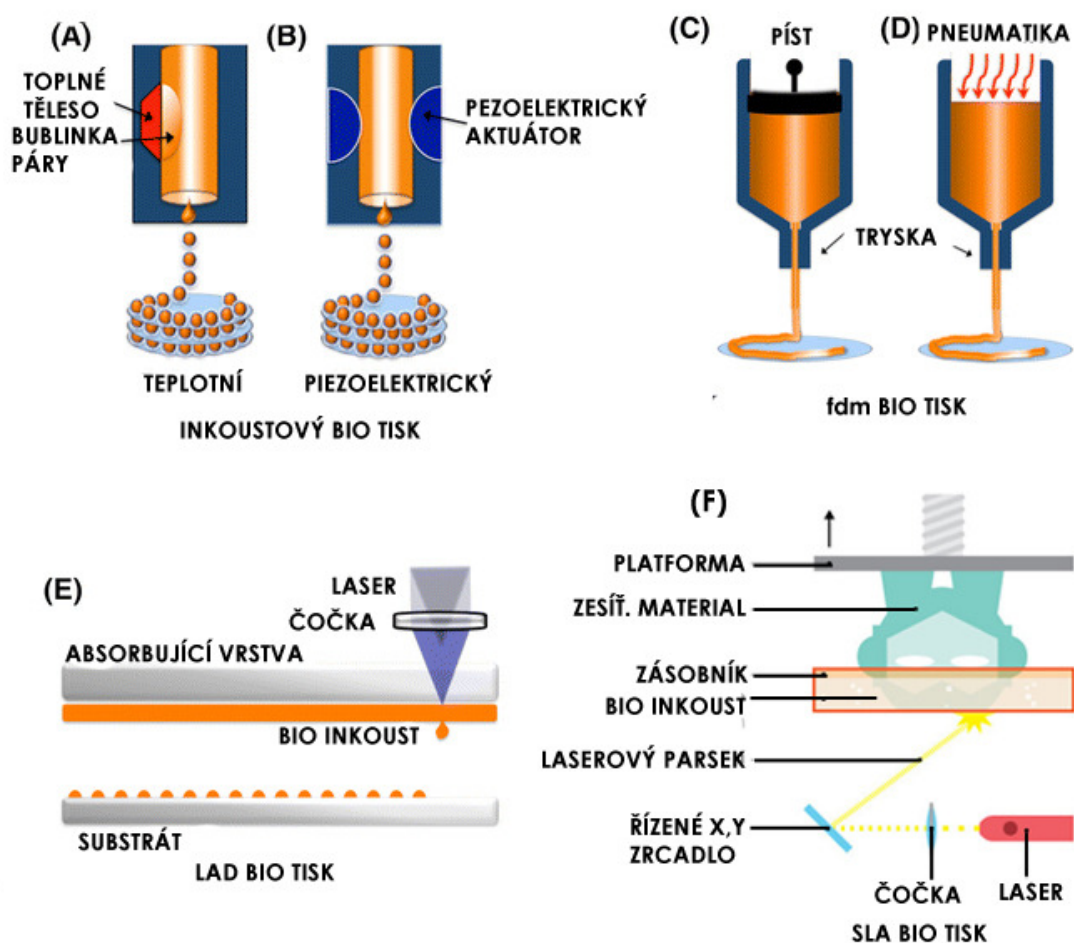
Metody 3D bio tisku se používají pro výrobu komplexních 3D objektů, zpravidla pro medicínské, farmaceutické nebo biotechnologické využití. Materiály využívané pro 3D bio tisk se nazývají bio inkousty nebo bio gely. Tyto materiály mohou být živé nebo neživé. Takzvaně živé materiály obsahují živé tkáňové buňky nebo bakterie, které jsou přímo tisknuty. Při tisku neživých biologických materiálů se jedná o takzvané nosiče, které jsou dále využívány jako podpora pro růst buněk [9]. Další oblastí, kde se využívá tisku neživých bio materiálů je výroba léčiv [10].

Technologie bio 3D tisku vycházejí z již existujících metod 3D tisku plastu nebo kovu. V této oblasti se využívají následující metody: inkoustový 3D tisk, stereolitografie (SLA), tisk pomocí laseru (LAD, SLS) a FDM metody. Jednou z hlavních výzev pro využití 3D bio tisku je přizpůsobení těchto technologií k tisku citlivých živých biologických materiálů [11].

V tabulce (Tab. 1) je uveden přehled technologií 3D bio tisku včetně porovnání jednotlivých parametrů. Principy těchto metod jdou schematicky zachyceny na Obr. 6.

Tab. 1 Přehled metod 3D bio tisku [12]

	Technologie			
	FDM	Inkjet	SLA	LAD
Rychlost tisku	Malá	Velká	Velká	Střední
Cena	Střední	Nízká	Nízká	Vysoká
Schopnost tisku ve 3D	Dobrá	Špatná	Dobrá	Střední
Životnost buněk [%]	87-92	80-95	>90	<85
Hustota buněk	Vysoká	Nízká	Střední	Střední
Rozlišení [μm]	100	50	100	10
Viskozita materiálu [mPa s]	$30-6 \times 10^7$	<10	Bez omezení	1-300



Obr. 6 Technologie 3D bio tisku. Inkoustový bio tisk (A, B), FDM bio tisk (C, D) LAD bio tisk (E), Stereolitografický bio tisk (F) [13]

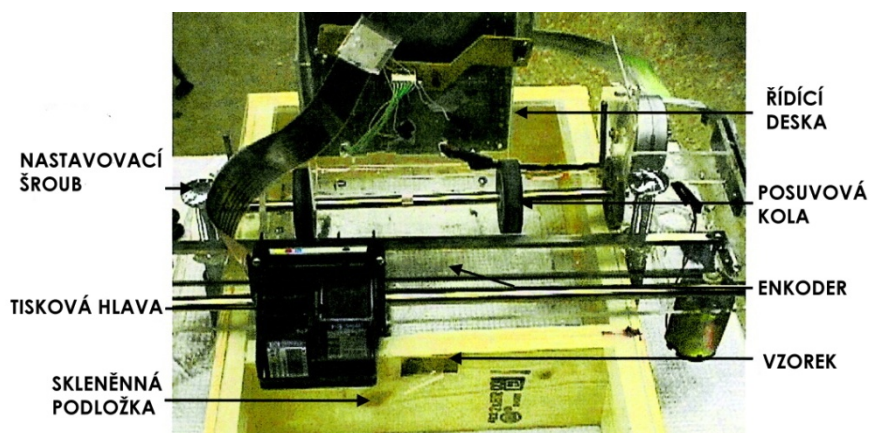
4.1 Inkoustový 3D bio tisk (Inkjet)

Metoda inkoustového 3D bio tisku je bezkontaktní technika, kde jsou piko-litrové kapičky bio inkoustu nanášeny na substrát, za účelem vytvořit 2D nebo 3D objekt.

Zjednodušeně lze říct, že se jedná o modifikaci inkoustové kancelářské tiskárny. Inkoust v kazetě tiskárny je nahrazen bio inkoustem, který může obsahovat i živé buňky. Papír je nahrazen podložkou přesně řízenou polohou osy Z, čímž je možné dosáhnout třetího rozměru. Utváření kapiček je řešeno buďto tepelně nebo piezo-elektrickými aktuátory.

Hlavní výhodou těchto inkoustových tiskáren je vysoká rychlost tisku. Naopak nevýhodou je nestejnoměrnost jednotlivých kapiček v průběhu tisku, a také možnost tisku pouze nízko viskosních materiálů, což vylučuje použití několika výhodných bio inkoustů [12, 14].

Příklad inkoustové bio-tiskárny je zobrazen na Obr. 7. Jedná se o modifikovanou kancelářskou tiskárnu HP 660C. Tisková hlava je zde tvořena devíti piezo-elektrickými aktuátory [15].



Obr. 7 Kancelářská tiskárna HP 660C přestavěná pro potřeby 3D bio tisku [15]

4.2 Laserem asistovaný 3D bio tisk (LAD)

Tato metoda je založena na laserem vynuceném přenosu materiálu. Laserový paprsek je zaostřen na rozhraní mezi nosičem, který je ve formě křemenného disku, a laserově absorpční bio vrstvy bio inkoustu. Materiál určený k tisku je nanesen na opačné straně křemenného kotouče, vzhledem k dopadajícím laserovému paprsku. Principiální schéma této metody je znázorněno na Obr. 6 (E).

Jelikož je tato bio vrstva na bázi vody, dochází při působení laseru k rychlému zahřívání. Toto zahřívání způsobí odpaření části vody a tvorbě kapsy páry mezi křemenným kotoučem a bio vrstvou. Kapsa páry způsobuje uvolnění a přesun zbývajících biologického materiálu ve formě malé kapičky směrem k druhému nosiči, substrátu. Velikost této kapičky je ovlivněna velikostí bodu, na který je laserový paprsek zaměřen, jeho energií a v neposlední řadě složením a tloušťkou bio vrstvy [16].

Nesporná výhoda oproti jiným metodám je absence trysek, tedy nemůže docházet k jejich ucpávání během tisku [13]. Dále pak možnost tisku ve vysokém rozlišení, které je v podstatě omezeno pouze velikostí laserového bodu. Na druhou stranu životaschopnost buněk v tištěném bio inkoustu je díky působení tepla snížena ve srovnání s jinými metodami [17].

4.3 Stereolitografický 3D bio tisk (SLA)

Stereolitografie, je metoda kde se využívá zesíťovatelnosti foto polymerů UV světlem. Nádoba tiskárny je v tomto případě naplněna zesíťovatelným bio inkoustem. Tisk probíhá postupným promítáním 2D řezů požadovaného modelu na podložku skrze fotopolymer. Promítání může být realizováno UV světlem nebo laserem. Tímto dojde k zesíťování materiálu a po posunu podložky v ose Z se proces opakuje. Jako fotopolymerizovatelný materiál se používají vytvrditelné akryly a epoxidy, které mohou obsahovat eukaryotické buňky (lidské tkáňové buňky) či bakterie. Výhoda stereolitografie je možnost dosažení vysokého stupně přesnosti tisku. Nevýhodou je ovšem intenzivní UV záření, které může být nežádoucí pro určité živé buňky. V neposlední řadě je zde limitující faktor v podobě nedostatku vhodných bio inkoustů tisknutelných touto metodou [14].

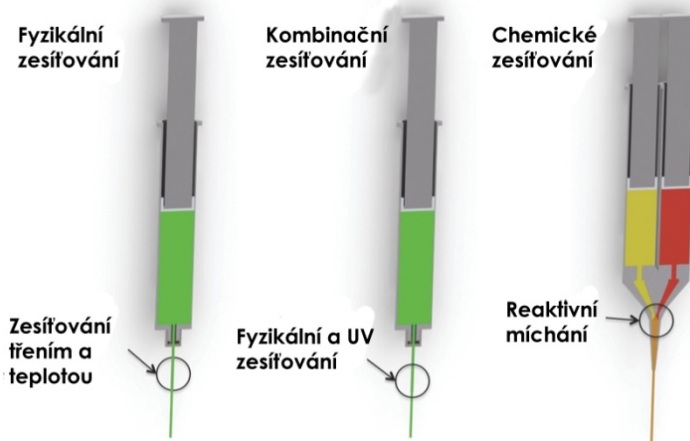
4.4 Extrusivní 3D bio tisk (FDM)

FDM bio tiskárny koncepčně vycházejí ze standardních FDM tiskáren na plastový filament, a patří pro svou jednoduchost a dostupnost mezi nejrozšířenější. Plastový filament je zde nahrazen obvykle jednorázovou injekční stříkačkou naplněnou bio inkoustem. Z těchto stříkaček je potom materiál vytlačován na podložku v jednotlivých vrstvách, až do vytvoření požadovaného tvaru. Dávkování (Obr. 6 C, D), probíhá buď pneumaticky, nebo mechanicky, kdy mechanické vytlačování může být realizováno buďto pístem nebo šnekem. Podložkou pro tisk může být například Petriho miska.

Na rozdíl od inkoustových, nebo laserem podporovaných, bio tiskáren nedochází k tisku ve formě jednotlivých kapiček, ale ve formě semi-kontinuálního vlákna bio gelu. Vytisknutá vrstva slouží jako podložka pro další vrstvy [18].

Vytlačování pomocí mechanického pístu obecně poskytuje přímější kontrolu nad průtokem bio gelu z trysky. Kdežto řízení pneumatického systému je ovlivněno stlačitelností plynu v systému a z toho plynoucího zpoždění Vytlačování pomocí šneku poskytuje obecně nejpresnější řízení a je vhodné pro extruzi materiálů s vyšší viskozitou [19].

Každá jedna vrstva bio materiálu může být zesíťována, pokud to konkrétní aplikace vyžaduje. Toto zesíťování může být provedeno buďto působením UV světla, působením teploty (ohřívání nebo chlazení), chemickou reakcí vytlačovaných materiálů, nebo kombinací těchto metod [19, 20]. Metody zesíťování jsou zobrazeny na Obr. 8.



Obr. 8 Základní metody zesíťování extrudovaného bio inkoustu [19]

Další možností je tisk bio inkoustu na podložku, se kterou chemicky reaguje a dojde tak k formování pevné struktury, následně může být externě nanесena další vrstva „tvrdidla“ nebo může být použito tisku dvou spolu reagujících látek ve vrstvách na sebe [21].

Hlavní výhodou tohoto přístupu je možnost tisku buněk ve vysoké hustotě [11]. Dále možnost tisku materiálu s relativně vysokou viskositou [18]. V neposlední řadě také cenová dostupnost FDM bio tiskáren a jejich snadná obsluha.

Nedostatky související s tímto přístupem jsou: nižší rozlišení a potenciální ucpávání trysek. Dále může být problémem snižena životaschopnost některých buněk v důsledku smykového napětí a UV záření [18].

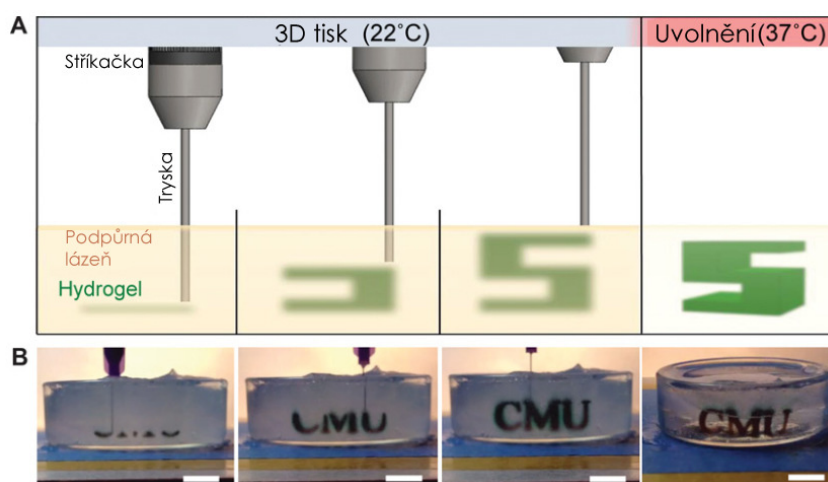
4.4.1 FRESH 3D bio tisk

FRESH je modifikovanou metodou FDM bio tisku, kdy dochází k extruzi bio inkoustu do podpůrné lázně. Tato podpůrná lázeň slouží jako podpora pro tisknutý objekt a umožňuje tak kvalitnější tisk komplexnějších objektů, než jaké by bylo možné tisknout bez podpory běžnou FDM metodou.

Podpůrná lázeň je tvořena želatinovými mikročásticemi, které působí jako Binghamova kapalina během procesu tisku. Podpůrná lázeň se tedy chová jako tuhé těleso při nízkých smykových napětích, ale proudí jako viskózní kapalina při vyšších smykových napětích.

Při pohybu trysky v gelu tedy dochází k malému mechanickému odporu, ale vytištěný materiál zůstává na místě. Tímto způsobem je možné tisknout i velmi malé objekty z měkkých materiálů, které by na vzduchu byly nestabilní. Celé prostředí podpůrného gelu je sterilní, tudíž zde není problém udržet živé složky gelu aktivní a nedochází k jejich kontaminaci.

Po ukončení tisku se podpůrná lázeň s vytištěným objektem zahřeje, čímž dojde k roztavení podpůrné lázně a vytištěný objekt je možné bez destrukce vyjmout. Obr. 9 zobrazuje průběh tisku metodou FRESH [22].



Obr. 9 Princip FRESH metody 3D bio tisku (A), Průběh FRESH 3D bio tisku (B) [22]

5 Aplikace 3D bio tisku

Technologie 3D bio tisku má široké uplatnění v různých oblastech. Významnou oblastí uplatnění je medicína, kde je, alespoň teoreticky, možné tisknout takřka cokoliv, od kostních tkání po srdeční chlopně. V Tab. 2 je uveden přehled medicínských aplikací 3D bio tisku. Včetně použitých technologií a materiálů.

Tab. 2 Přehled možných medicínských aplikací 3D bio tisku včetně metod a materiálů.

[17, 23]

Tkáň	Technologie	Materiál
Srdeční chlopně	FDM	Kyselina hyaluronová
		Želatina
		Alginát
Srdeční sval	FDM	Alginát
Cévy	FDM	Alginát
	Inkjet	Kolagen
		Agarosa
		Aliginát
Svalovina	Inkjet	Fibrin
	FDM	Agarosa
		Alginát
Nervy	FDM	Agarosa
	Inkjet	Sojový agar
		Kolagen
		Fibrin
Kůže	Inkjet	Kolagen
Tuk	FDM	Alginát
	LAD	Roztok fibrinu a kyseliny Hyaluronové
Kosti	Inkjet	DermaMatrix (kolagen)
	FDM	Keramika
		PLA filament
	Stereolitografie	Fosforečnan vápenatý
		Kyselina mléčná

Příkladem možného využití 3D bio tisku v medicíně je tisk asymetrických srdečních chlopní. Obr. 10 (A, B), zobrazuje 3D modely určené pro tisk ze dvou materiálů. Obr. 10 (C) potom realizované výtisky těchto asymetrických srdečních chlopní [24].

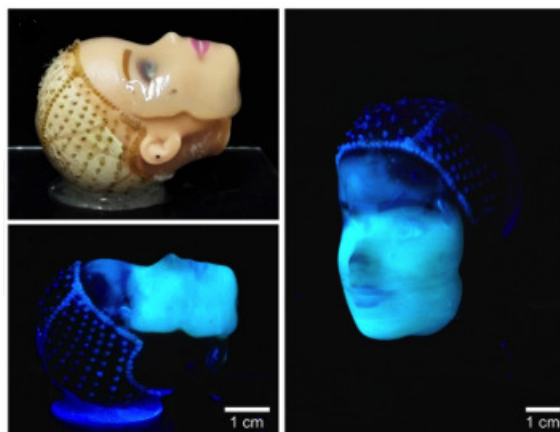


Obr. 10 3D tisk asymetrických srdečních chlopní. 3D modely pro tisk (A, B) a realizované výtisky (C) [24]

Další oblastí je farmacie, kde je možné 3D bio tisk použít k výrobě léků. Hlavní přínosy 3D tisku léků spočívají zejména ve výrobě malých dávek léků, z nichž každá má přesně stanovené dávkování pro daného pacienta. Dále pak může být optimalizovaný tvar i velikost léku pro optimální charakteristiku uvolňování účinné látky v těle pacienta [10].

Imobilizace jednobuněčných mikroorganismů (bakterií) pomocí 3D tisku není v současné době příliš rozšířená. Imobilizace se v biotechnologickém průmyslu využívají zejména proto, že imobilizované buňky jsou obecně životaschopnější, i přes výrazné změny vnějšího prostředí a mohou být z procesu separovány a opětovně využity. Nevýhodou toho postupu je obecně zpomalení chemických reakcí, což je způsobeno nutností látek difundovat skrze vrstvu nosiče. V současné době se pro imobilizaci mikroorganismů používají porézní nosiče, jež se nechají kolonizovat buněčnou populací a následně jsou využity v průběhu bio procesů. Nicméně při nalezení vhodných tisknutelných bio inkoustů by se otevřela zcela nová možnost cílené aplikace biofilmů na zvolené povrchy, což by mohlo být využito v řadě biotechnologických procesů. Příkladem je tisk bakterií na povrch elektrod. Dalším potenciálním využitím je tisk biodegradabilních plastů obsahujících bakterie s řízeným časem rozpadu a podobně. Rozšíření a vývoj technologií 3D tisku bakterií by mohl vést k nové generaci bio mineralizovaných kompozitů [21, 25].

Jako příklad reálnosti 3D tisku biofilmů je uveden tisk na tvář panenky (Obr. 11). Tisk byl proveden hydrogelem obsahujícím bakterie *Acetobacterxylinum*. Koncentrace těchto bakterií je zvýrazněna použitím UV světla [25].



*Obr. 11 3D bio tisk biofilmu na tvář panenky. Přítomnost bakterií *Acetobacterxylinum* je zvýrazněna UV světlem [25]*

6 3D bio tiskárny

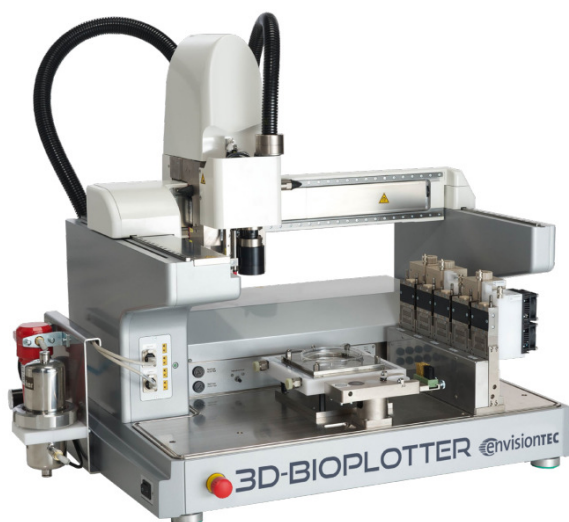
V současné době jsou komerčně dostupné v zásadě jen FDM 3D bio tiskárny. Tento fakt je dán jednoduchostí technologie a rozmanitostí použitelných bio inkoustů. Cena těchto tiskáren se pohybuje od 120 000 Kč do vyšších jednotek milionů korun. Někteří výrobci modulárních FDM systémů nabízí i výměnné hlavice pro tisk metodou inkoustového 3D bio tisku [26]. Experimenty s LAD bio tiskem jsou prováděny v laboratořích na tiskárnách, navrhnutých pro konkrétní aplikaci [27]. 3D bio tisk technologií SLA, je možné provádět na standardních SLA 3D tiskárnách, za předpokladu použití vhodného materiálu.

6.1 EnvisionTec 3D-Bioploter

Firma EnvisionTec je lídrem ve výrobě 3D bio tiskáren. Tiskárna 3D-Bioploter je tiskárna typu FDM, kde je proces vytlačování realizován pneumatickým pístem. Výrobce nabízí 3 varianty těchto tiskáren v závislosti na výbavě. Kdy nejvybavenější je tiskárna „Manufacturer series“, následovaná „Developer series“ a základní model „Starter series“. Přičemž cena těchto tiskáren začíná na zhruba 4,5 milionech korun [26].

Na těchto tiskárnách je možné tisknout (v závislosti na modelu) až 5 různých materiálů najednou, s rozlišením 0,001 mm a při rychlostech tisku 0,1-150 mm/s. Rozměry tiskového prostoru jsou zde 150x150x140 mm. Samozřejmě je chlazená a vyhřívaná podložka s možností regulace teploty od -10 °C do +80 °C. Tiskové hlavy jsou řešeny modulárním systémem a je tak možné volit mezi vysoko a nízkoteplotními hlavami, celkový rozsah regulace teploty tištěného materiálu je u těchto hlav 0-500 °C. Mimo tiskové hlavy s regulací teploty je možné použít i UV vytvrzovací hlavy s vlnovými délkami 365 a 405 nm. Případně hlavy, které umožňují míchání materiálů v poměrech 1:1, 1:2, 1:4 a 1:10. Jako zásobníky gelu jsou zde používány injekční stříkačky v objemech od 10 do 50 ml [28].

Tiskárna disponuje automatickou kalibrací pozice trysky pomocí senzorů a kamery s vysokým rozlišením. Tiskárna je vybavena filtrem pro udržení sterilního prostředí, čistota prostředí lze zvýšit osazením do bio bezpečného boxu. Pro kontrolu průběhu a případnou analýzu tisku je zde přítomna kamera s vysokým rozlišením, která pořizuje snímky po každé jedné vrstvě. Na Obr. 12 je tiskárna EnvisionTec 3D-Bioploter Manufacturer series [28].



Obr. 12 3D bio tiskárna Envisiontech 3D –bioploter Manufacturer series [28]

6.2 Cellink BIO X

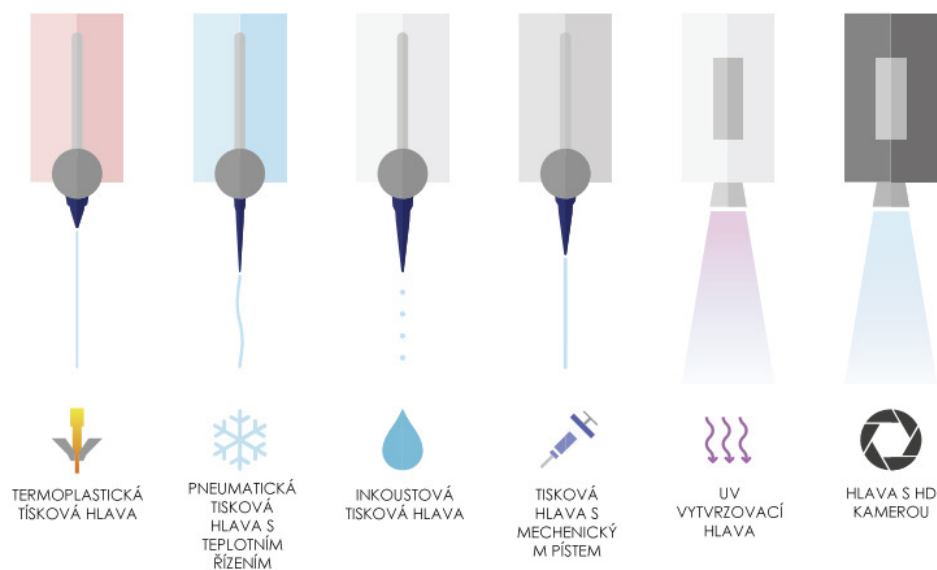
Cellink je relativně mladá švédská firma, která byla založena v roce 2016, zaměřující se na vývoj a prodej bio inkoustů určených k 3D bio tisku. Společně s bio inkousty vyvíjí a prodává 3D bio tiskárny. Tiskárna Cellink BIO X (Obr. 13) je nejnovějším produktem

této firmy. Jedná se o FDM 3D bio tiskárnu s modulárními tiskovými hlavami. Vytlačování gelu je realizováno pneumatickým nebo mechanickým systémem. Cena této tiskárny je zhruba 890 000 Kč [29].



Obr. 13 3D bio tiskárna Cellink BIO X [30]

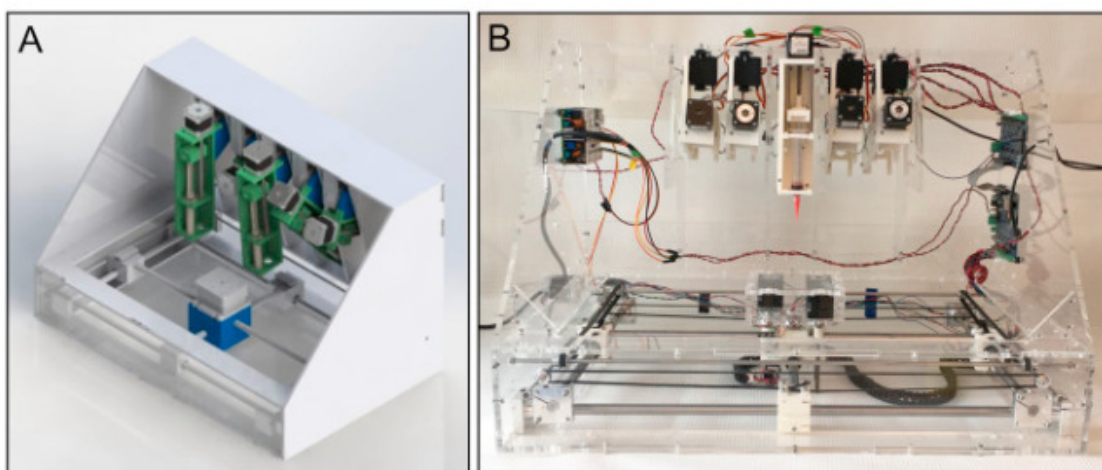
Tato tiskárna umožňuje tisk až třemi materiály v rozlišení 0,001 mm, při rychlostech tisku do 40 mm/s. Velikost tiskového prostoru je 130x90x70 mm a je možné regulovat teplotu tiskové podložky v rozmezí 5-60 °C. Pro tisk bio gelu je možné využít teplotní regulaci v rozmezí 4-65 °C. Dále je nabízena tisková hlava pro inkoustový tisk bio inkoustu, kde je možné regulovat teplotu až do 65 °C. Tato tisková hlava je založena na elektromagnetické tvorbě kapiček. Také je možné použít tiskovou hlavu pro tisk z termoplastů, zde je možné dosahovat teploty až 250 °C. Samozřejmostí je možnost použít vytvrzovacích hlav s UV světlem o vlnové délce 365 a 405 nm. Na místo tiskové hlavy je možné osadit kameru s vysokým rozlišením pro dokumentaci tisku. Tiskárna je v neposlední řadě vybavena filtrem HEPA H14, který udržuje čisté tiskové prostředí. Pro zvýšení sterility prostředí je možné použít čistící cyklus s UV světlem vlnové délky 275 nm. Obr. 14 schematicky zobrazuje rozsah použitelných tiskových hlav [30].



Obr. 14 Přehled tiskových hlav pro tiskárnu Cellink BIO-X [30]

6.3 Alternativy komerčních 3D bio tiskáren

Vedle komerčně dostupných 3D bio tiskáren existuje řada volně dostupných řešení pro 3D bio tisk. První kategorií jsou 3D bio tiskárny, které byly navrženy od začátku pro testování konkrétních materiálů a aplikací. Příkladem je 3D bio tiskárna (Obr. 15) z Univerzity v Torontu, která byla navržena a postavena pro tisk cév z hydrogelů. Náklady na stavbu této tiskárny byly zhruba 50 000 Kč [31].

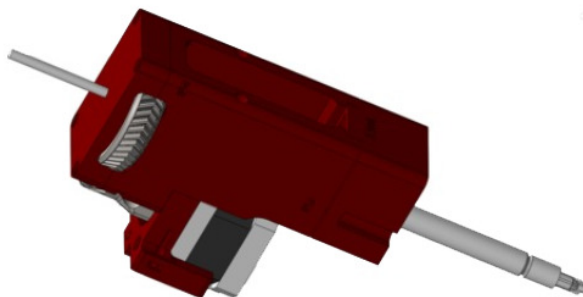


Obr. 15 Open-source 3D bio tiskárna navržená (A) a realizovaná (B) na univerzitě v Torontu [31]

Dále jsou navrhovány samostatné extrudéry schopné vytlačovat bio inkousty. Těmito extrudéry jsou potom nahrazovány extrudéry na plastový filament na komerčních FDM 3D tiskárnách. Nespornou výhodou těchto volně dostupných zařízení je jejich přizpůsobitelnost a cenová dostupnost. Protože cena je zde tvořena v podstatě pouze režijními náklady na výrobu a nákup materiálů. Přičemž výroba drtivé většiny komponentů je řešena metodami FDM 3D tisku. Cenová náročnost těchto extrudérů, je v rámci nižších tisíců korun.

6.3.1 Replistruder

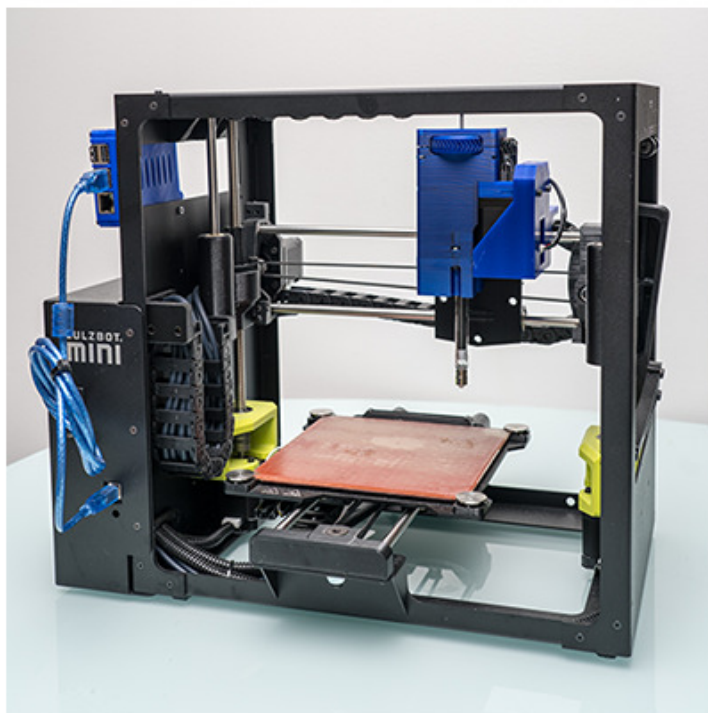
Replistruder (Obr. 16) je gelový extrudér, který přímo nahrazuje extrudér na plastový filament. Je tedy určen k montáži na osu tiskárny namísto extrudéru stávajícího. Konec injekční stříkačky zde tvoří tiskovou trysku. Tento extrudér navrhl T. J. Hamilton na univerzitě Carnegie Mellon.



Obr. 16 Gelový extrudér Replistruder [32]

Jde o extrudér určený pro tisk metodou FRESH. Zásobníky gelu tvoří injekční stříkačky do objemu 10 ml. Stlačování pístu zde zajišťuje mechanický píst, který je poháněn krokovým motorem NEMA 17 s převodovkou. Převod rotačního pohybu na lineární zajišťuje kinematická dvojice matice - šroub. Matice je v tomto případě spojena s hnaným kolem převodového soukolí. Závitová tyč (šroub) potom koná lineární pohyb a tlačí přímo na píst stříkačky [32].

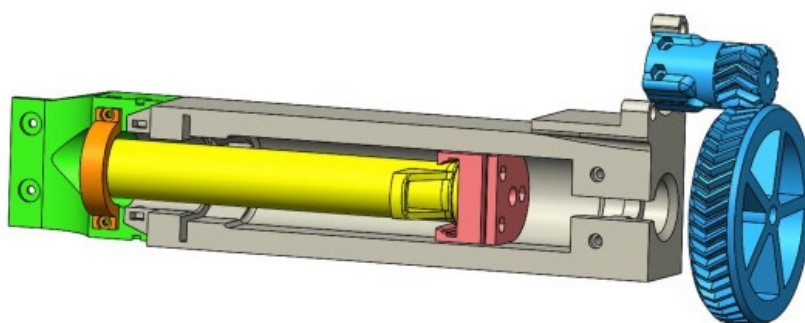
Na Obr. 17 je znázorněn Mini2 Bioprinter. Jde o tiskárnu, určenou pro 3D bio tisk metodou FRESH. Základem je 3D tiskárna LulzBot Mini 2 která je osazena gelovým extrudérem Replistruder.



Obr. 17 3D Tiskárna LulzBot Mini2 osazená gelovým extrudérem Replistruder [33]

6.3.2 LVE extrudér

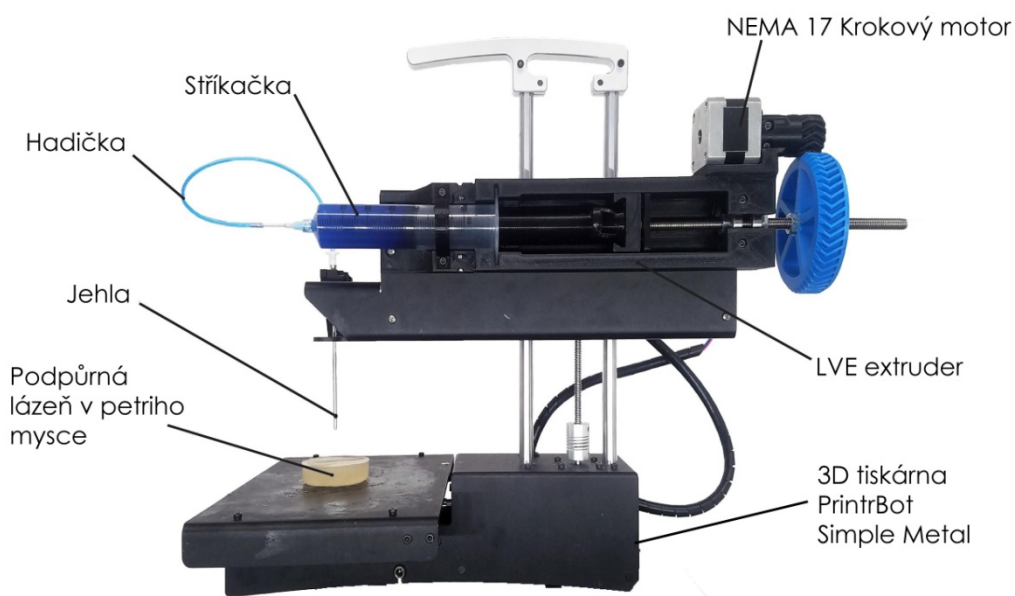
LVE je zkratkou pro „Large volume extruder“ tedy, velkoobjemový extrudér (Obr. 18). Jedná se o extrudér navržený pro použití s tiskárnami Printbot Simple Metal. Na rozdíl od extrudéru Replistruder má mnohem větší kapacitu. Zásobník materiálu je tvořen injekční stříkačkou o objemu 60 ml. Díky své velikosti musí být umístěn na rámu tiskárny, a osa tiskárny tedy nese pouze trysku pro tisk bio inkoustu. Spojení mezi LVE extrudérem a tryskou je řešeno hadičkou.



Obr. 18 Gelový extrudér LVE (bez spojovacího materiálu, motoru a stříkačky) [34]

Stlačování pístu zajišťuje mechanický píst, který je poháněn krokovým motorem NEMA 17 s převodovkou. Převod rotačního pohybu na lineární je zde realizován kinematickou dvojicí šroub - matice. Závitová tyč (šroub) je v tomto případě uložena v ložiskách a spojena s hnáným kolem převodového soukolí. Matice je spojena s posuvným sliderem a koná tak lineární pohyb. Píst je potom stlačen prostřednictvím tohoto slideru [34].

Obr. 19 zobrazuje tiskárnu PrintrbotSimple Metal osazenou LVE extrudérem. Tato sestava je určena pro 3D bio tisk metodou FRESH.



Obr. 19 3D tiskárna Printrbot Simple Metal, osazená LVE gelovým extrudérem, připravená pro tisk FRESH metodou [34]

7 Návrh 3D tiskárny pro tisk bio gelu

Při návrhu 3D tiskárny pro tisk bio gelu jsou v zásadě dva možné přístupy. První přístup je návrh zcela nového zařízení, včetně návrhu pohonů, řízení a veškerých součástí zcela od základu. Druhou možností je modifikace existující 3D tiskárny, například typu FDM, pro potřeby tisku bio gelu. Oba přístupy mají své výhody a nevýhody. Hlavní výhodou prvního přístupu, tedy návrhu od základu, je možnost přizpůsobení veškerých detailů pro danou aplikaci, bez nutnosti kompromisu. Kdežto při modifikaci existující tiskárny je nutné respektovat limity, rozměry a koncepci daného zařízení. Na druhou stranu, nevýhodou návrhu od základu je nutnost návrhu a odladění softwaru a firmwaru pro

celé zařízení, včetně pohonů, senzorů a podobně. Pokud je modifikována existující 3D tiskárna je možné využít již odladěný firmware a software a soustředit se pouze na problematiku tisku bio gelu. V neposlední řadě lze předpokládat že 3D bio tiskárna, navržená zcela od základu, by ve výsledku byla velice podobná přestavěné 3D tiskárně.

Z těchto důvodů bylo rozhodnuto, že pro aplikaci tisku 3D prostorových struktur na povrch grafitové elektrody bude modifikována komerčně dostupná 3D FDM tiskárna.

7.1 Tiskový materiál

Materiálem pro tisk je následující bio gel: 2% *k-CA* + 2% *HA* + 2% *FS*. Jedná se o hydrogel, který obsahuje 2% kyseliny hyaluronové, 2% karagenanu a 2% pyrogenního oxidu křemičitého.

Tento gel bude v pozdějších fázích vývoje obsahovat karbonové nano trubičky, pro zajištění elektrické vodivosti a metakrylátové skupiny pro UV zesíťovatelnost.

Součástí tohoto gelu budou i bakterie *Geobacter sulfurreducens*. Tyto bakterie jsou schopny využít oxidačně-redukčního potenciálu elektrody k produkci malých organických molekul, jako například etanolu. Činnost těchto bakterií nanesených jako součást biofilmu na grafitové elektrodě bude následně zkoumána v bio-reaktorech.

7.2 Okrajové podmínky návrhu

Pro návrh tiskárny byly stanoveny následující okrajové podmínky. Tiskárna musí být schopna provádět tisk na grafitovou elektrodu o rozměrech 20x10x100 mm. Objem materiálu v zásobníku musí být 20 ml. Tryska pro tisk bio gelu má mít průměr ± 1 mm. Celá sestava tiskárny musí být kompaktní, jelikož tisk bude probíhat v anaerobním prostředí speciálního anaerobního boxu, který má omezené rozměry. Tento anaerobní box je naplněn směsí plynů N_2 a CO_2 . Musí být umožněna sterilní manipulace s tisknutým materiálem. Tiskárna zároveň musí umožňovat vytvrzování UV světlem. Variantně tiskárna může být schopna tisknout ze dvou materiálů. Tiskárna musí být samostatně stojící zařízení, které ke svému chodu nepotřebuje externí řídicí počítač. Dále musí být snadno vyrobitelná a přiměřeně uživatelsky přívětivá.

7.3 3D tiskárna Prusa I3 MK3

Jako základ pro modifikaci byla vybrána tiskárna Prusa I3 MK3. Tato tiskárna je určena pro tisk plastových filamentů o průměru 1,75 mm. Jedná se o tiskárnu Josefa Průši a jeho firmy Prusa Research. Tiskárny typu I3 jsou vyvíjeny od roku 2012 v Praze jako RepRap zařízení. Tiskárna Prusa I3 MK3 je v době výběru tiskárny (září 2018) poslední iterací těchto tiskáren. Obr. 20 zobrazuje produktový obrázek tiskárny Prusa I3 MK3 [35].

Tento typ tiskárny byl zvolen pro svou jednoduchou konstrukci, výrobní kvalitu a snadnou modifikovatelnost. Tiskárny Prusa I3 se navíc vyznačují odladěným firmwarem, uživatelsky přívětivým softwarem pro přípravu dat a velmi dobrou zákaznickou podporou. Cena této tiskárny, jako samostatně fungujícího zařízení je zhruba 20 000 Kč [35].



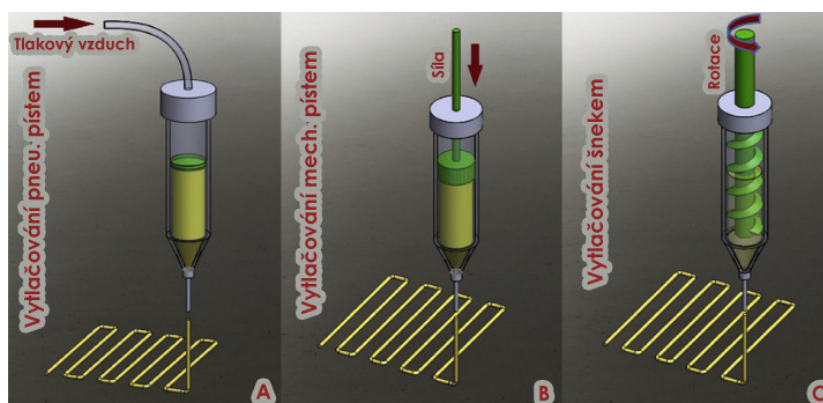
Obr. 20 3D tiskárna Prusa I3 MK3 [36]

8 Koncepce řešení přestavby 3D tiskárny

Před samotným návrhem modifikací tiskárny bylo nutné rozhodnout o koncepci celého řešení. Hlavními otázkami zde byly: metoda vytlačování bio gelu, a koncepce umístění gelového extrudéru vůči tělu tiskárny.

8.1 Volba metody vytlačování bio gelu

Jako zásobník bio gelu určeného pro tisk byly zvoleny jednorázové sterilní injekční stříkačky o objemu 20 ml. V podobných aplikacích se používají tři možnosti extruze materiálu z injekčních stříkaček. Jedná se o vytlačování tlakem vzduchu, mechanickým pístem a šnekem. Schéma těchto přístupů je Obr. 21.



Obr. 21 Principy vytlačování bio gelu, vytlačování pneumatickým pístem (A), mechanickým pístem (B) a šnekem (C) [12]

Pro tuto konkrétní aplikaci byla jako nejvhodnější metoda zvolena extruze pomocí mechanického pístu. Toto řešení eliminuje kontakt cizích těles s tisknutým bio gelem, protože tisknutý materiál je hermeticky uzavřen uvnitř stříkačky. Umožňuje pohon pístu pomocí krokového motoru, což usnadňuje integraci gelového extrudéru do tiskárny a jeho snadné řízení. Navíc je zde možné měnit typ a objem stříkačky dle potřeby.

Extruze šnekem je vyloučena, z důvodu jednak nákladné výroby šneku a na druhé straně limitace jedním, přesným typem stříkačky k danému šneku. Největším problémem je však kontakt cizího tělesa, šneku, s tisknutým materiálem. Z toho vyplývající komplikované čištění a sterilizace tělesa šneku.

Extruze pomocí stlačeného vzduchu je při této aplikaci vyloučena z důvodu podmínky tisku v anaerobním boxu. Do tohoto boxu není z logiky věci možné přivádět stlačený vzduch z okolního prostředí. Umístění kompresoru do prostoru boxu není možné z důvodu prostorových limitací. Z důvodu udržení koncentrace plynů (N_2 a CO_2) uvnitř boxu není možné k vytlačování použít ani plynových bomb s těmito plyny.

8.2 Volba umístění gelového extrudéru vůči tiskárně

V předchozí části byla zvolena metoda vytlačování bio gelu mechanickým pístem. Toto řešení předpokládá mechanický gelový extrudér. Pohonem tohoto gelového extrudéru bude krokový motor s převodovkou a následným převodem rotačního pohybu na lineární. Obecně lze umístit gelový extrudér vůči tiskárně následujícími způsoby.

Prvním je přímé nahrazení extrudéru na plastový filament, extrudérem pro vytlačování gelu (Obr. 22 A). U této možnosti tryska k vytlačování je přímo připojena na konec injekční stříkačky. Tento koncept využívá již zmíněný Replistruder [32].

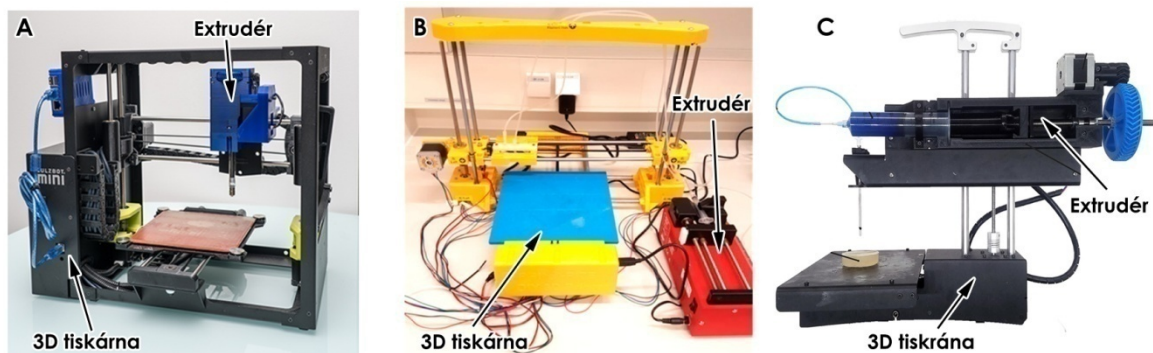
Výhodou tohoto přístupu je eliminace hadičky, tudíž snazší řízení vytlačování gelu. Nevýhodou je zatížení osy tiskárny extrudérem, který je zpravidla těžší než standardní extrudér pro plastový tisk.

Druhou variantou je umístění extrudéru mimo tiskárnu (Obr. 22 B). Ve výsledku se tedy jedná o dvě samostatné zařízení spojené hadičkou. V tomto případě tiskárna nese pouze trysku k vytlačování gelu. Toto řešení reprezentuje tiskárna, která byla použita pro testování tisku bakterií [21].

Nevýhoda tohoto řešení spočívá v použití delší hadičky, což komplikuje řízení vytlačování. Na druhou stranu umístění mimo tiskárnu umožňuje použití robustního, teoreticky neomezeně těžkého gelového extrudéru.

Třetí možností je umístění gelového extrudéru na tělo tiskárny (Obr. 22 C). V zásadě jde o podobný přístup jako u předchozí varianty. Ovšem ve výsledku je jen jedno kompaktní zařízení. Tento přístup je použit například u LVE extrudéru [34].

Oproti předchozí variantě je nevýhodou zatížení rámu tiskárny extrudérem. Na druhou stranu díky tomuto umístění, je možné zredukovat délku hadičky na minimum, pro lepší řízení vytlačování bio gelu.



Obr. 22 Možnosti umístění gelového extrudéru vůči 3D tiskárně [21, 32, 34]

Pro návrh tiskárny bylo zvoleno třetí řešení. Tedy umístění extrudéru na tělo tiskárny, kde osa tiskárny nese pouze trysku. Toto řešení bylo zvoleno s ohledem na možnost osazení dvěma extrudéry. Protože umístění dvou extrudérů na osu tiskárny by neúměrně zatěžovalo mechanismus tiskárny, zmenšovalo by tiskovou plochu a kalibrace trysek by byla komplikovaná. Dále pak s ohledem na požadavek na kompaktnost zařízení z důvodu umístění do anaerobního boxu.

8.3 Zvolený koncept řešení přestavby tiskárny

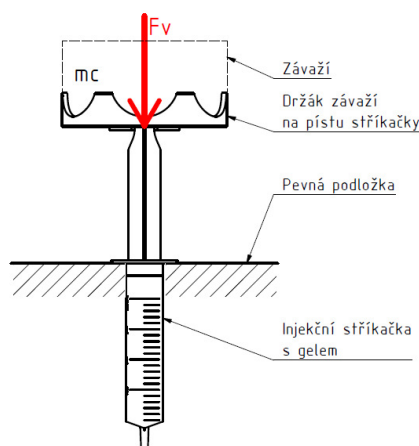
Pro návrh tiskárny byl na základě předcházejících kapitol zvolen následující koncept řešení. Nově zkonstruovaný extrudér pro vytlačování bio gelu ze injekčních stříkaček bude umístěn do horní části rámu tiskárny. Originální extrudér na plastový filament zůstane zachován. Sestava tohoto extrudéru na plastový filament bude modifikována tak, aby bylo možné osadit UV LED pro vytvrzování gelu a držák trysek pro gelový tisk. Injekční stříkačka bude spojena s tryskou prostřednictvím hadičky.

9 Návrh extrudéru pro vytlačování bio gelu

Extrudér, stejně jako ostatní příslušenství, byl navrhován tak, aby majorita součástí byla vyrobitelná metodou FDM 3D tisku. Návrh probíhal v programu Autodesk Inventor Professional 2019. Jednotlivé komponenty jsou vyrobeny z PLA a PETG filamentů. Pokud není uvedeno jinak, pro jejich tisk není potřeba využít podpory, což znamená úsporu materiálu a zároveň redukuje čas tisku [37].

9.1 Výpočet potřebného výkonu k vytlačování bio gelu

Před návrhem extrudéru byla experimentálně zjištěna síla potřebná k vytlačování gelu z injekční stříkačky. Experiment byl proveden pomocí přípravku, do kterého byla upevněna stříkačka s hydrogelem, osazená hadičkou a tryskou. Píst byl postupně zatěžován závažími, až do dosažení hmotnosti $m_c=6988$ g, kdy gel začal proudit z trysky souvislým proudem. Obr. 23 zobrazuje schéma experimentu. Výsledná vytlačovací síla je potom vypočtena dle rovnice 1.



Obr. 23 Schéma experimentu pro zjištění potřebné síly k vytlačování gelu

$$F_v = m_c * g = 6,988 * 9,81 = 68,55 \text{ N} \quad (1)$$

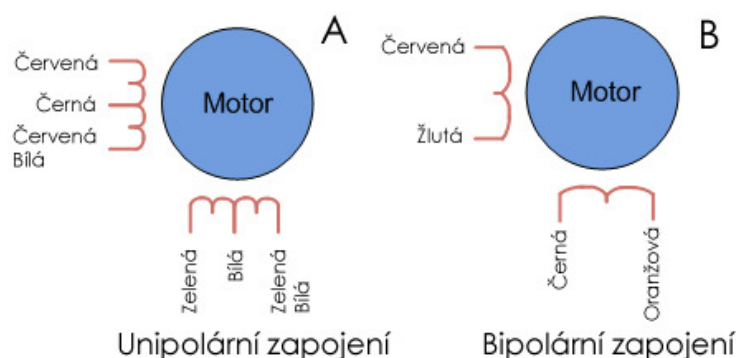
Výsledná síla F_v potřebná k vytlačování gelu je dle rovnice 1 rovna 68,55 N.

9.2 Motor NEMA 17

Standardem pro RepRap 3D FDM tiskárny je použití krokových motorů, jak pro pohon extrudéru, tak jednotlivých os. Tiskárna Prusa I3 MK3 používá motory typu NEMA 17. Tento typ motoru byl zvolen i pro pohon navrhovaného gelového extrudéru.

Označení motoru NEMA je dle normy NEMA ICS 16-2001 a udává rozměr montážní příruby v desetinách palců. NEMA 17 má tedy rozměr příruby 1,7x1,7 palce. V této normě je specifikována i rozteč závitů M3 pro montáž [38].

Norma specifikuje rozměr příruby, ale nespecifikuje parametry motoru. Krokové motory mohou být obecně unipolární (Obr. 24 A) nebo bipolární (Obr. 24 B) které se liší svým elektrickým zapojením. Kde unipolární motory jsou snazší na řízení a bipolární mají větší točivý moment a lepší spotřebu elektrické energie [39].



Obr. 24 Unipolární (A) a Bipolární (B) zapojení krokového motoru včetně možného barevného značení vodičů [39]

Pro pohon tiskárny je použit krokový, bipolární motor NEMA 17, typ 17H2A8423 značky MOTION KING. Parametry tohoto motoru jsou uvedeny v Tab. 3.

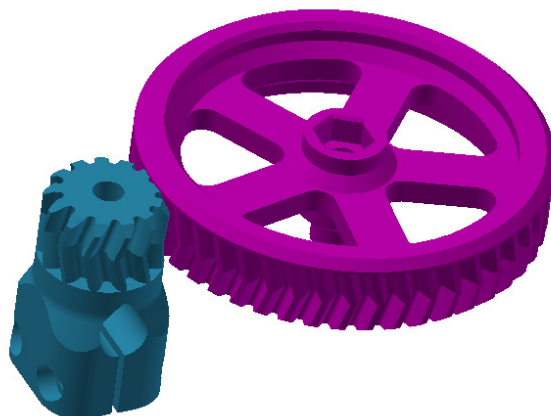
Tab. 3 Parametry krokového motoru NEMA 17 17H2A8423 [40]

Výrobce	MOTION KING
Označení motoru	17H2A8423
Typ motoru	Bipolární
Délka motoru [mm]	48
Jmenovitý proud [A]	2,3
Krouticí moment [N*cm]	52
Hmotnost motoru [g]	350

9.3 Návrh převodovky

První navrženou částí gelového extrudéru je převodovka s převodovým poměrem 3,6. Jde o jednostupňovou převodovku, která je tvořena soukolím s šípovitým ozubením. Kde pastorek má 13 zubů a hnané kolo 47 zubů. Modul zubů je 1,25 mm a úhly profilu (α_k) i sklonu (β_k) zubů jsou 20 stupňů. Šípovité ozubení bylo zvoleno z důvodu eliminace axiální síly od ozubení na ložisko. Parametry převodového soukolí vychází z ověřených extrudérů Replistruder [32] a LVE extruder [34]. Výroba tohoto ozubení by konvenčními metodami byla obtížná, ovšem při návrhu se počítalo s výrobou metodou FDM 3D tisku. Materiál pro výrobu kol je PETG filament.

Obr. 25 zobrazuje navržené převodové soukolí. Na pastorku je drážka pro realizaci svěrného spoje s hřídelí motoru. Pro tisk hnaného kola je potřeba použít podpory.



Obr. 25 Převodové soukolí. Pastorek 13z a hnané kolo 47z

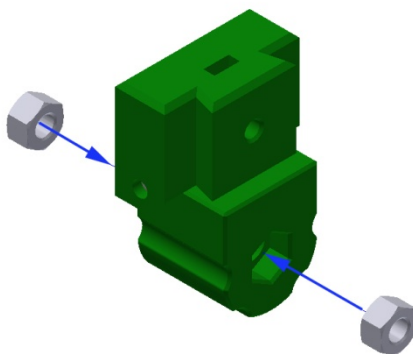
Maximální krouticí moment na hnaném kole se vypočte dle rovnice 2 [41].

$$M_{k2} = M_{k1} * i = 0,52 * 3,6 = 1,872 \text{ Nm (2)}$$

Kde M_{k1} je maximální krouticí moment od motoru NEMA 17 a i je převodový poměr.

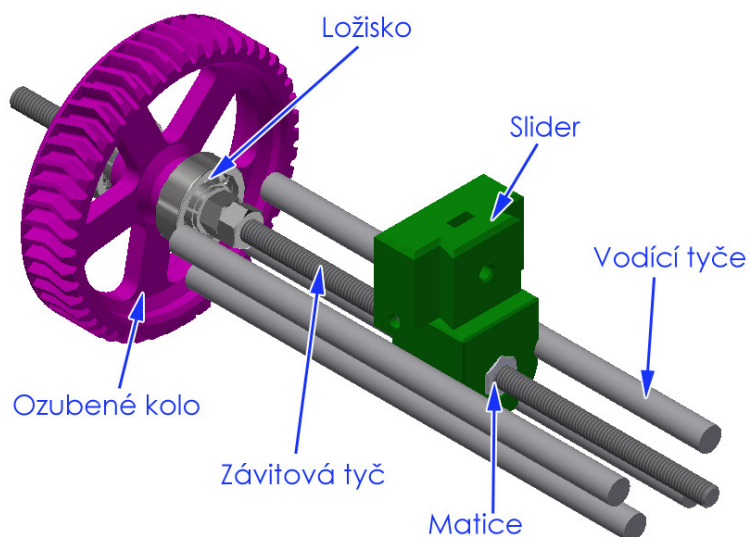
9.4 Převod rotačního pohybu na lineární

Převod rotačního pohybu na lineární je realizován kinematickou dvojící matice - šroub. Kdy závitová tyč je pevně spojena s hnaným kolem a uložena v ložiskách. Matice je potom součástí slideru, který koná lineární pohyb v těle extrudéru. Je zde použita nerezová závitová tyč (M5) a pro minimalizaci tření matice (M5) z nylonu nebo bronzu. Vůle v závitech je vymezena použitím dvou matic na opačných stranách slideru (Obr. 26). Pro vymezení optimální vůle v závitech je možné každou z matic pootočit a usadit do jedné z šesti možných pozic šestiúhelníkového vybrání.



Obr. 26 Osazení slideru maticemi

Obr. 27 zobrazuje realizaci převodu rotačního pohybu na pohyb lineární.



Obr. 27 Realizace převodu rotačního pohybu na lineární

9.4.1 Výpočet mechanismu gelového extrudéru

Na základě experimentálního měření potřebné síly k stlačení pístu byla provedena kontrola krouticího momentu motoru. Stlačování pístu stříkačky je v tomto případě modifikovaný příklad šroubového zvedáku [42].

Tab. 4 Parametry závitu M5 [43]

Jmen. prům. závitu d [mm]	Stoupání závitu s [mm]	Střední prům. závitu d ₂ [mm]	Vrcholový úhel α [°]
5	0,8	4,48	60

Úhel stoupání závitu γ se vypočte podle rovnice 3 [42].

$$\gamma = \tan^{-1} \frac{s}{\pi * d_2} = \tan^{-1} \frac{0,8}{\pi * 4,48} = 3,25^\circ \quad (3)$$

Třecí úhel φ se potom vypočte podle rovnice 4 [42].

$$\varphi = \tan^{-1} \frac{f}{\cos \frac{\alpha}{2}} = \tan^{-1} \frac{0,18}{\cos \frac{60}{2}} = 11,74^\circ \quad (4)$$

Kde f je součinitel tření mezi bronzovou maticí a ocelovým šroubem [44].

Obvodová síla pro zvedání F_o se potom vypočte dle rovnice 5 [42].

$$F_o = F_v * \tan(\gamma + \varphi) = 68,55 * \tan(3,25 + 11,74) = 18,26 \text{ N} \quad (5)$$

Kde F_v je síla nutná k vytlačování (z rovnice 1).

Krouticí moment na matici M_{km} se potom vypočte podle rovnice 6 [42].

$$M_{km} = F_o * \frac{d_2}{2} = 18,26 * \frac{4,480 * 10^{-3}}{2} = 0,041 \text{ Nm} \quad (6)$$

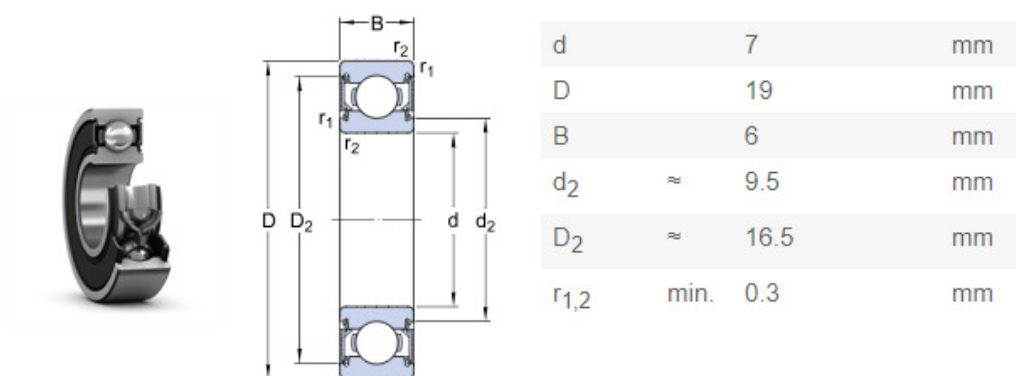
Ověření dostatečnosti maximálního krouticího momentu motoru se pak provede podle rovnice 7.

$$M_{k2} = 1,872 \text{ Nm} > M_{km} = 0,041 \text{ Nm} \quad (7)$$

Dle provedených výpočtů a výsledu rovnice 7 je zřejmé že navržený mechanismus a zvolený motor vyhovují.

9.5 Návrh radiálních ložisek

Pro uložení hnaného kola byla zvolena jednořadá kuličková ložiska CSN 024630 SKF 607-2RSL s vlastní tukovou náplní těsněním na obou stranách. (Obr. 28).



Obr. 28 Ložisko SKF 607-2RSL včetně základních rozměrů [45]

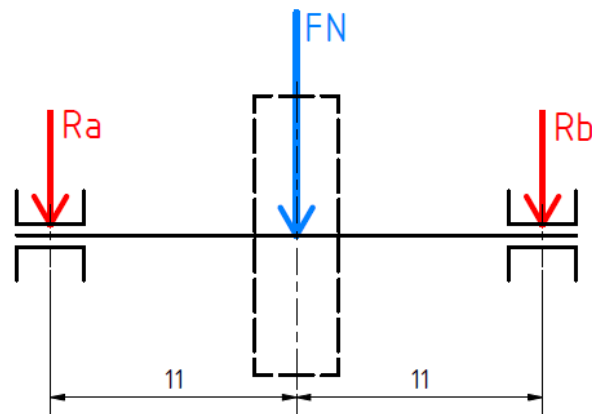
Tato ložiska jsou zatížena v radiálním směru reakcemi (Obr. 29) na normálovou sílu ozubeného kola.

Obvodová síla na ozubeném kole se vypočte podle rovnice 8 [41].

$$F_{ok} = \frac{2 * M_{km}}{D} = \frac{2 * 0,041}{47 * 1,25} = 1,63 \text{ N (8)}$$

Kde M_{km} je krouticí moment na matici a D je roztečný průměr ozubeného kola. Normálová síla se potom vypočte dle rovnice 9 [41].

$$F_N = \frac{F_{ok}}{\cos \alpha_k * \cos \beta_k} = \frac{1,36}{\cos 20 * \cos 20} = 1,54 \text{ N (9)}$$



Obr. 29 Schéma k výpočtu reakcí v ložiskách od normálové síly oz. kola

Momentová rovnice k místu působení reakce R_a je podle rovnice 10.

$$F_N * a + R_b * 2a = 0 \text{ (10)}$$

Momentová rovnice k místu působení reakce R_b je potom dle rovnice 11.

$$-F_N * a - R_a * 2a = 0 \text{ (11)}$$

Výsledné reakce R_a a R_b jsou podle rovnice 12 respektive 13.

$$R_a = \frac{-F_N}{2} = \frac{-1,54}{2} = -0,77 \text{ N (12)}$$

$$R_b = \frac{-F_N}{2} = \frac{-1,54}{2} = -0,77 \text{ N (13)}$$

Z rovnic 12 a 13 vyplývá, že ložiska jsou zatížena ekvivalentně.

Ložiska jsou vedle radiální síly zatížena axiální silou, která je reakcí na vytlačovací sílu $F_v = 68,55 \text{ N}$.

Kontrola životnosti ložisek byla provedena dle kalkulátoru ložisek firmy SKF (Obr. 30).

Bearing rating life : 607-2RSL		Result	
Input parameters			
Select bearing internal radial clearance	Normal internal radial clearance		
F_r Radial load	0.00077 kN	L_{10mh} SKF rating life	698700 hour
F_a Axial load	0.06855 kN	a_{SKF} SKF life modification factor a_{SKF}	0.13
n_i Rotational speed of the inner ring	60 r/min	κ Viscosity ratio	0.18
Operating temperature Bearing outer ring	30 °C	P Equivalent dynamic bearing load	0.11 kN
η_c specification method	Cleanliness classification(recommended)	η_c Factor for contamination level	0.08
Lubricant type and cleanliness	High cleanliness (sealed bearing)	v_1 Required kinematic viscosity for $\kappa=1$	701.6 mm ² /s
Grease used in the bearing	MT47	L_{10h} Basic rating life	>1000000 hour
Viscosity at 40 °C	70.0 mm ² /s	L_{10} Capped bearing grease life	hour
Viscosity at 100 °C	7.3 mm ² /s	C/P Load ratio	21.3

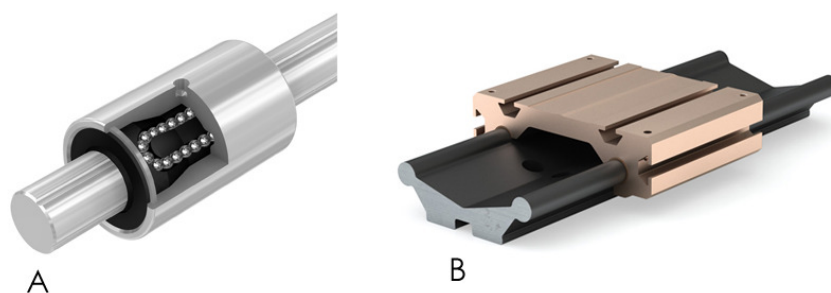
Obr. 30 Snímek z kalkulátoru SKF pro ověření životnosti ložisek. Tabulka vstupních hodnot a výsledků [45]

Tato kalkulace vzhledem k působícím silám potvrdila předpoklad, že životnost ložisek je více než dostatečná, základní životnost ložisek L_{10h} je zde více než 1 milion hodin. Ložiska tak poskytují rezervu pro případ, že by byl k tisku použit jiný materiál s vyšším odporem.

9.6 Návrh lineárního vedení

Při vytlačování dochází k posuvu slideru, stlačujícího píst stříkačky, v těle extrudéru. Slider má navíc tendenci otáčet se kolem osy závitové tyče. Pro zachycení těchto pohybů je použito lineární vedení. Toto vedení je možné realizovat například použitím lineárních kuličkových ložisek na přesných hlazených tyčích. Toto řešení je zpravidla používáno na osách 3D tiskáren. Na Obr. 31 (A) je zobrazena sestava lineárního kuličkového ložiska a hlazené tyče.

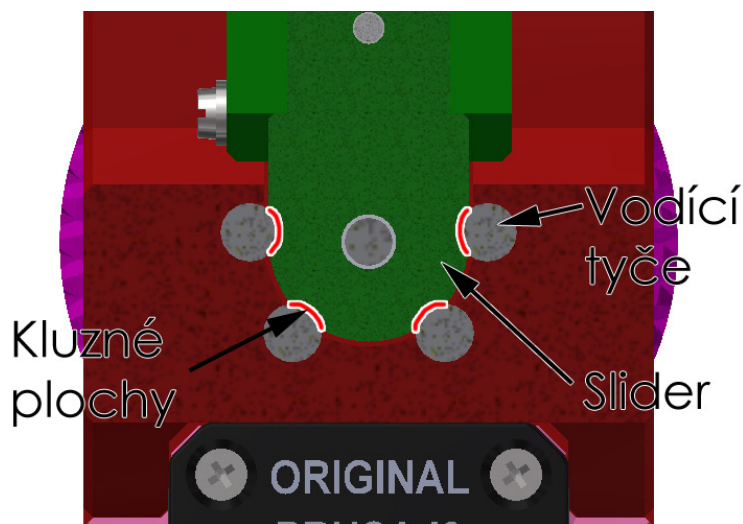
Dále je možné použití kombinace přesně tvarované kolejnice a kluzného elementu. Kluzné elementy se vyrábějí z bronzu nebo plastických hmot. Na Obr. 31 (B) je ukázán příklad sestavy kolejnice a kluzného elementu.



Obr. 31 Lineární vedení ve formě lineárního kuličkového (A) a kluzného (B) ložiska [46, 47]

Lineární vedení v navrhovaném gelovém extrudéru používá kluzné vedení vlastní konstrukce. Použití sestavy kuličkových ložisek a tyčí, nebo nakupované kolejnice a kluzného elementu by zbytečně zvyšovalo hmotnost a cenu zařízení. Navíc rychlost posouvání slideru je velmi malá a není zde kladen důraz na vysokou přesnost vedení.

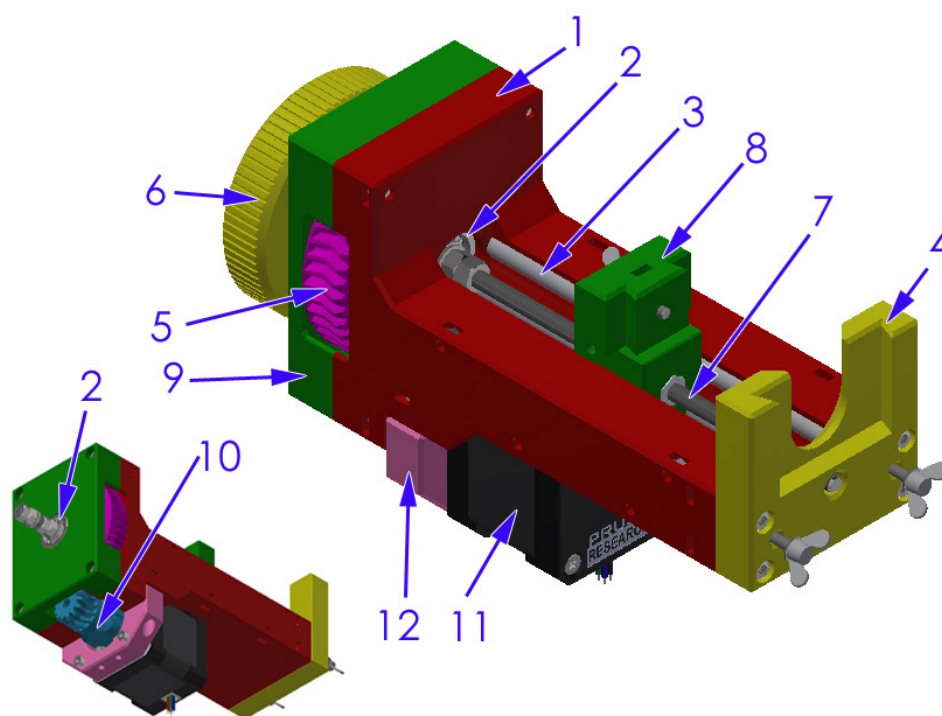
Vlastní konstrukce spočívá v integraci 4 hlazených ocelových tyčí, nebo variantně tyčí z PTFE o průměru 6 mm, do těla extrudéru. Protikusem je slider z PLA, který má osazení pro tyto tyče. Osazení je před montáží zabroušeno pro hladký chod. Na Obr. 32 je schematicky zobrazen příčný řez tímto vedením.



Obr. 32 Lineární vedení na navrženém gelovém extrudéru

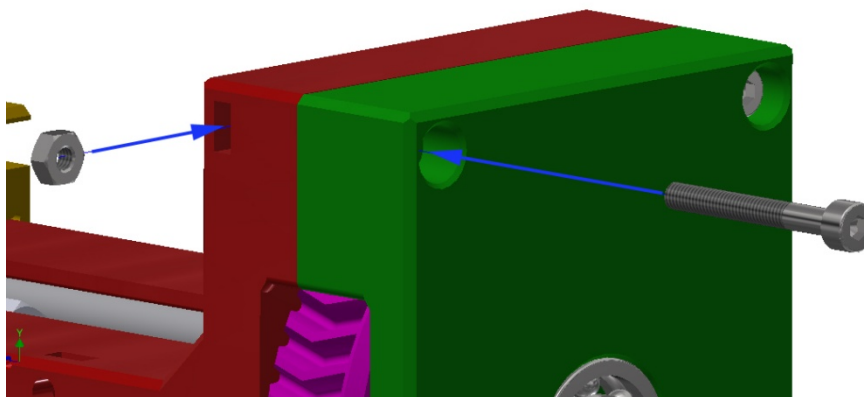
9.7 Konstrukce gelového extrudéru

Základem navrhovaného gelového extrudéru (Obr. 33) je tělo extrudéru (1) do kterého se montují další součásti. V těle extrudéru jsou osazení pro kuličkové ložisko (2) a vodící tyče (3). Vodicí tyče jsou zajištěny proti pohybu čelem extrudéru (4), do kterého se následně upínají těla injekčních stříkaček. Hnané kolo převodového soukolí (5) je pevně spojeno s manuálním kolem (6) a závitovou tyčí M5 (7). Tato závitová tyč zajišťuje pohyb slideru (8). Hnané kolo převodového soukolí je potom uloženo v ložiskách (2) v těle extrudéru a v krytu převodovky (9). Pohon převodového soukolí tvoří přes pastorek (10) motor NEMA 17 (11), který je uložen v držáku motoru (12). Materiálem pro všechny komponenty je PLA filament.



Obr. 33 Gelový extrudér; 1-tělo extrudéru; 2-kuličkové ložisko; 3-vodicí tyče; 4-čelo extrudéru; 5-hnané kolo; 6-manuální kolo; 7-závitová tyč; 8-slider; 9-kryt převodovky; 10-pastorek; 11-motor NEMA 17; 12-držák motoru

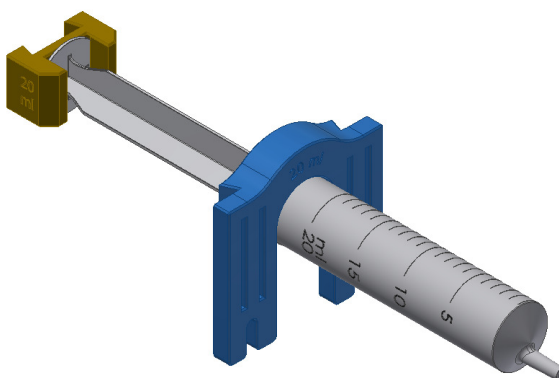
Spojení dílů je realizováno šroubovými spoji (M3), kde matice jsou osazeny ve slotech. Příklad šroubového spoje je na Obr. 34. Obdobné spojení je používáno i na dalším příslušenství gelového extrudéru.



Obr. 34 Šroubový spoj s využitím slotu pro matici

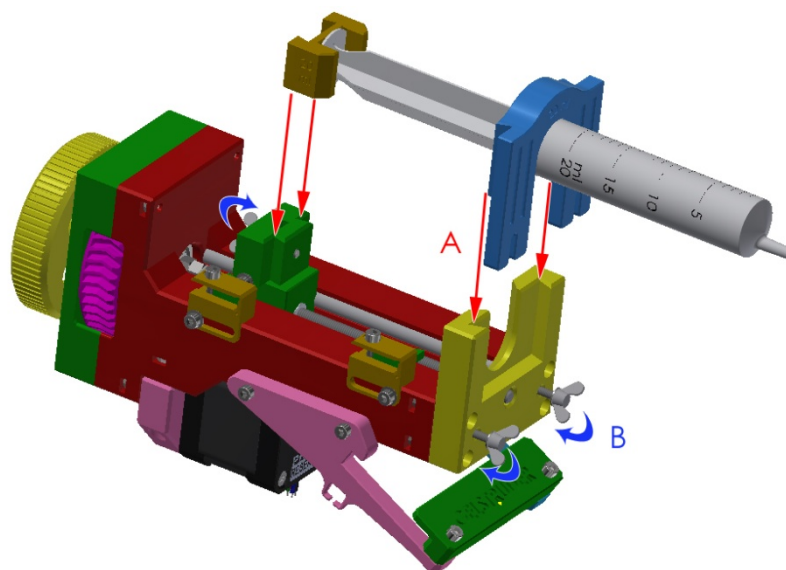
9.8 Upínání stříkaček do gelového extrudéru

Extrudér je navržen pro tisk ze stříkaček o objemu 10 a 20 ml. Při návrhu upínání těchto stříkaček byl kladen důraz na jednoduchou výměnu bez použití nářadí. Před tiskem se tělo stříkačky osadí podkovou a píst stříkačky upínacím dílcem. Mezi stříkačkou a podkovou, respektive pístem stříkačky a upínacím dílcem je tvarová vazba. Stříkačka připravená pro upnutí do gelového extrudéru je zobrazena na Obr. 35.



Obr. 35 Injekční stříkačka (20 ml) připravená k upnutí do gelového extrudéru

Upnutí takto osazené stříkačky pak probíhá zasunutím do drážek v čele extrudéru a na slideru (Obr. 36 A). Sestava stříkačky je následně zajištěna utažením křídlatých šroubů DIN316-M3x20 (Obr. 36 B).



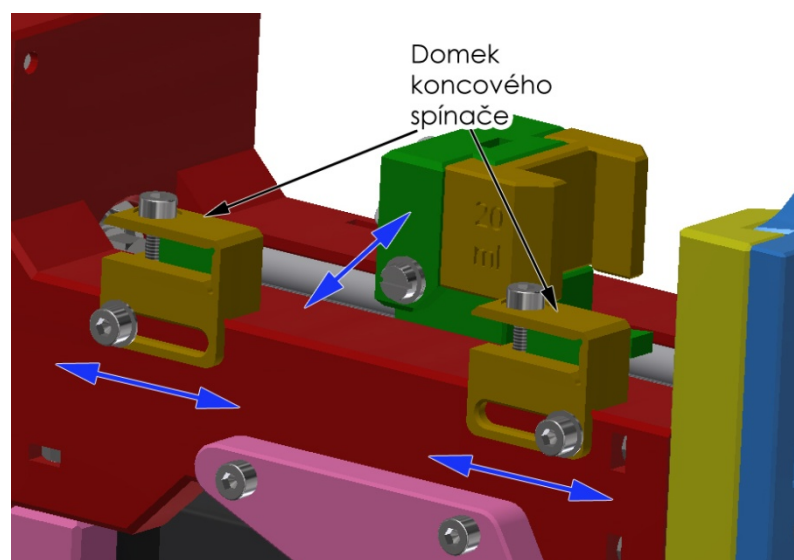
Obr. 36 Proces upínání stříkačky. Zasunutí do drážek (A) a utažení křídlatých šroubů DIN316-M3x20 (B)

Navržené řešení umožňuje snadné přizpůsobení pro použití s jiným typem nebo objemem stříkaček prostou úpravou těchto dvou dílů. Podkova i upínací dílec pístu jsou navrženy pro 3D tisk FDM metodou z materiálu PLA, bez použití podpor.

9.9 Koncové snímače v mezních polohách zdvihu gelového extrudéru

Koncové polohy gelového extrudéru jsou detekovány pomocí mechanických spínačů od společnosti Omron Electronic Components, typ D2FS-FL-N.

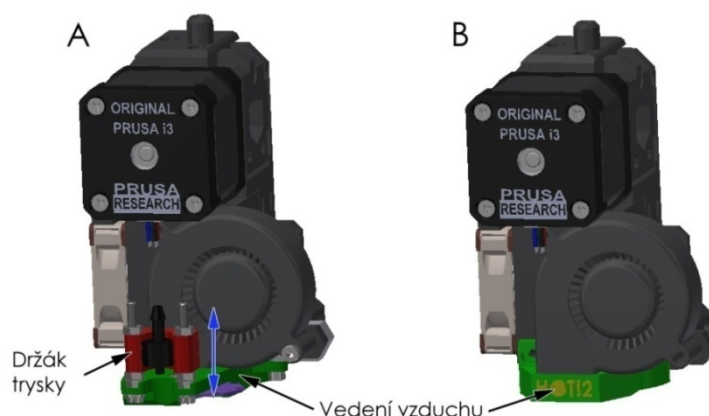
Tyto spínače jsou osazeny v domcích, které je možné namontovat na levou nebo pravou stranu gelového extrudéru. Přesné nastavení koncové polohy může být realizováno posunem těchto domků podél těla gelového extrudéru. Jemné doladění může být provedeno optimalizací počtu podložek pod šroubem, v těle slideru, který přichází do kontaktu s pákou snímače. Princip možností nastavení je zobrazen na Obr. 37.



Obr. 37 Nastavení pozice koncových spínačů

9.10 Uchycení trysky pro tisk bio gelu na ose X tiskárny Prusa I3 MK3

Tryska pro tisk bio gelu je umístěna na původním extrudéru na plastový filament. Pro účely montáže této trysky byla provedena modifikace vedení vzduchu, pro chlazení plastového výtisku, od ventilátoru. Uchycení samotné trysky je realizováno spojením typu snap-fit. Modifikovaná verze tohoto vedení obsahuje vedle držáku pro trysku i prostor pro umístění UV LED. Na Obr. 38 (A) je zobrazena modifikovaná verze sestavy extrudéru tiskárny Prusa I3 MK3, včetně možnosti nastavení výšky trysky. Obr. 38 (B) pak zobrazuje původní sestavu. Tato modifikace nijak nelimituje použití tiskárny pro tisk plastového filamentu. Modifikované vedení vzduchu od větráku je vyrobeno z materiálu PETG a pro svůj tvar vyžaduje při tisku podpory.

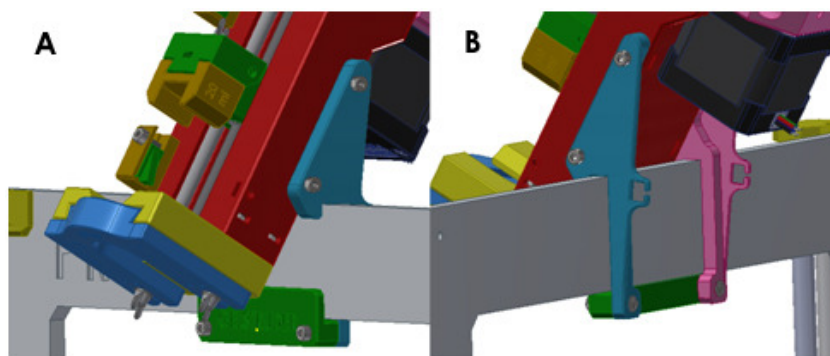


Obr. 38 Sestava extrudéru pro tisk plastového filamentu. Modifikace pro umístění trysky gelového tisku (A), původní varianta (B)

9.11 Montáž gelového extrudéru na rám tiskárny Prusa I3 MK3

Montáž gelového extrudéru na rám tiskárny Prusa I3 MK3 je realizována prostřednictvím navržených držáků. Tyto držáky mají v sobě integrovaný prostor pro vedení kabelů od koncových spínačů. Držáky jsou namontovány přímo do těla gelového extrudéru a následně spojeny ve spodní části pro zajištění polohy celé sestavy na rámu tiskárny.

Na Obr. 39 je zobrazen detail montáže gelového extrudéru na rám tiskárny.



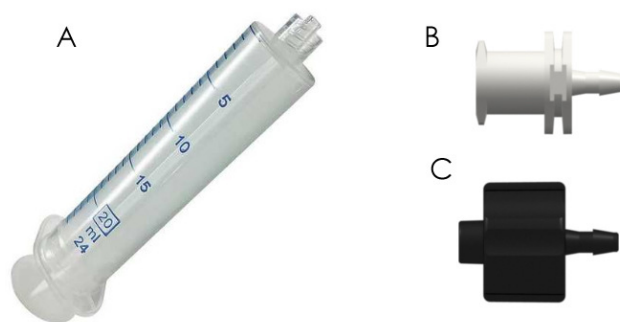
Obr. 39 Detail montáže gelového extrudéru na rám tiskárny Prusa I3 MK3. Přední (A) zadní (B) pohled.

9.12 Vedení bio gelu

Jako zásobníky bio gelu jsou použity jednorázové injekční stříkačky, řady NORM-JECT (Obr. 40 A) s Luer-Lock závitem, o objemu 10 a 20 ml. Tyto stříkačky vyrábí firma Henke-Sass, Wolf GmbH.

Vedení tisknutého bio gelu ze stříkačky k trysce je zajištěno PTFE hadičkou o průměru 4mm, délce 250 mm a tloušťce stěny 0,5 mm. Použití PTFE minimalizuje odpor protékajícího gelu.

Hadička je k injekční stříkačce připojena fitinkou FTL210-1 (Obr. 40 B) a na druhém konci osazena fitinkou s Luer-Lock vnitřním závitem MTLL210-2 (Obr. 40 C) od firmy Nordson MEDICAL.



Obr. 40 Komponenty vedení bio gelu. Stříkačka NORM-JECT (A) Luer-Lock fitinka FTL210-1 (B), Luer-Lock fitinka MTLL210-2 [48, 49]

Jako koncový člen se potom používají trysky s plochým hrotem na jedné straně a Luer-Lock závitem na straně druhé. Tyto trysky dodává firma METCAL. Materiál pro výrobu těchto trysek je buďto nerezová ocel, nebo HDPE s UV blokujícím aditivem. Trysky jsou vyráběny v rozměrech od 14 do 32G v případě nerezové varianty, respektive od 14 do 27G u plastových trysek [50]. Řada trysek použitelných pro tisk je na Obr. 41.

Tímto je zajištěn dostatečný rozsah průměrů pro tisk různých materiálů. Pro tuto konkrétní aplikaci se využívá HDPE tryska o průměru 18G.



Obr. 41 Řada trysek s Luer-lock závitem společnosti METCAL

Luer-Lock je závit dle normy ISO 80369-7:2016, který realizuje těsné spojení mezi Luer-Lock „šroubem“ a Luer-Lock „maticí“. Tohoto standardu využívají lékařské a laboratorní přístroje. Rovněž se používá pro spojení injekčních stříkaček a jehel [51].

Velikost injekčních jehel se udává v jednotkách „G“ (Birminghamský gauge). Pro lepší orientaci se jednotlivé rozměry jehel vyrábějí v odlišných barvách. Obr. 42 ukazuje toto barevné rozlišení a vnitřní rozměry trysek v milimetrech.

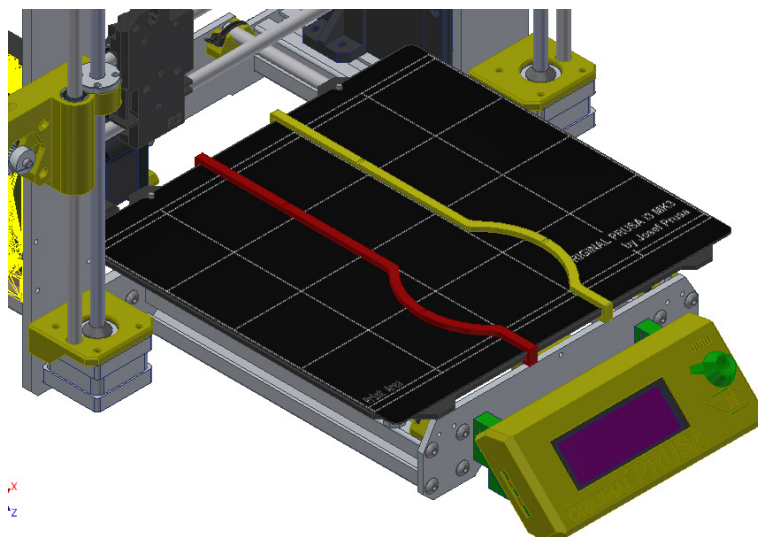
	Gauge	Barva	Vnitřní průměr (palec)	Vnitřní průměr (mm)
	14	Olive	0.063	1.600
	15	Amber	0.054	1.371
	18	Green	0.033	0.838
	20	Pink	0.024	0.610
	21	Purple	0.020	0.508
	22	Blue	0.016	0.406
	23	Orange	0.013	0.330
	25	Red	0.010	0.254
	27	Clear	0.008	0.203
	30	Lavender	0.006	0.152
	32	Yellow	0.004	0.102

Obr. 42 Barevné rozlišení a rozměry METCAL trysek [50]

9.13 Příslušenství gelového extrudéru

V souvislosti s návrhem gelového extrudéru bylo navrženo i příslušenství nutné pro jeho provoz. Jedná se o upínací dílce na tiskovou podložku, pouzdro přídavné elektroniky a domky přídavných spínačů.

Grafitové elektrody, nebo Petriho misky je možné na podložce vycentrovat a zafixovat pomocí upínacích dílců (Obr. 43), které se nacvaknou na ocelový tiskový plát tiskárny Prusa I3 MK3.

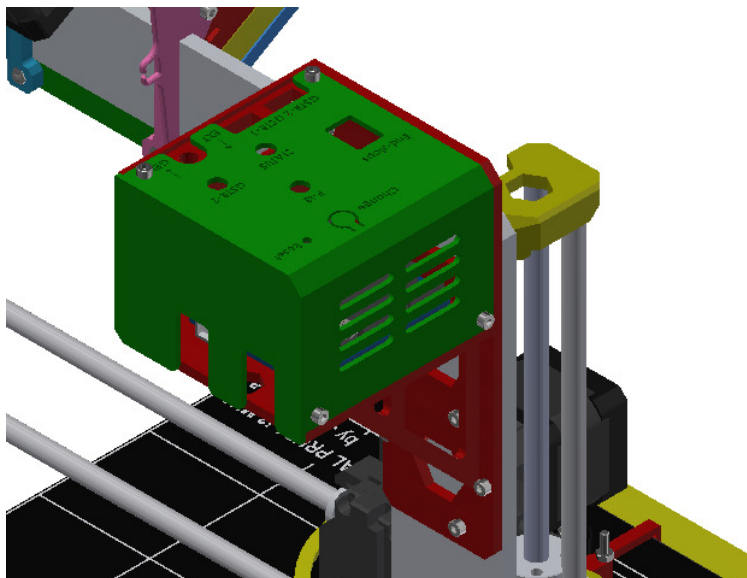


Obr. 43 Podložka tiskárny Prusa I3 MK3 osazená upínacími dílci pro uchycení Petriho misek nebo elektrod

Pro elektronickou sestavu (popsáno v kapitole 10) je navrženo pouzdro, které umožňuje montáž na rám tiskárny Prusa I3 MK3. Základna tohoto pouzdra využívá k montáži

otvory se závitem M3, které výrobce využívá pro montáž rozšíření pro multi - materiálový tisk.

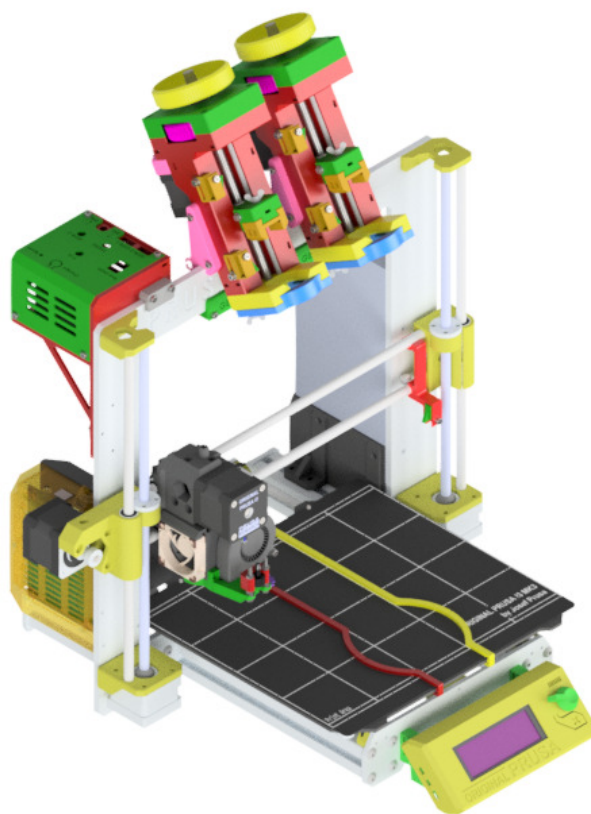
Součástí tohoto pouzdra je odnímatelné víko, obsahující popisky jednotlivých konektorů, diod atd. Obr. 44 zobrazuje pouzdro elektroniky na rámu tiskárny Prusa I3 MK3.



Obr. 44 Pouzdro elektroniky osazené na tiskárně Prusa I3 MK3

V souvislosti se sestavou elektroniky byly navrženy také držáky přidavných spínačů na osy X a Y tiskárny Prusa I3 MK3. Tyto jsou podrobněji popsány v kapitole 10.4.

Obr. 45 pak zobrazuje celkový pohled na kompletní návrh přestavby tiskárny Prusa I3 MK3. Tiskárna je zde osazena dvěma gelovými extrudéry, pouzdrem elektroniky a přidavnými spínači.



Obr. 45 Tiskárna Prusa I3 MK3 osazená dvěma gelovými extrudéry a příslušenstvím

10 Návrh přídavné elektronické sestavy

Hlavním úkolem elektronického zapojení je integrace prvků, které jsou nad rámec funkcionality původní tiskárny Prusa I3 MK3. Jde o koncové spínače v mezních polohách gelového extrudéru (případně extrudérů) a ovládání UV LED diody.

Jsou možné dva přístupy integrace těchto funkcí. Prvním přístupem je integrace těchto funkcí přímo do řídicí desky tiskárny (Einsy-Rambo). Tento přístup se jeví jako nejpřímočařejší, ale vyžaduje extensivní zásahy do firmwaru tiskárny a případně i hardwarové modifikace samotné desky. Zde ovšem hrozí riziko, že by došlo k omezení funkcionality tiskárny pro tisk plastu a zároveň by bylo obtížné udržovat firmware tiskárny aktuální.

Druhou možností je potom přídavné zařízení, které tyto funkce obsáhne a bude fungovat do jisté míry nezávisle na tiskárně. Zde nejsou nutné hardwarové úpravy řídicí desky a

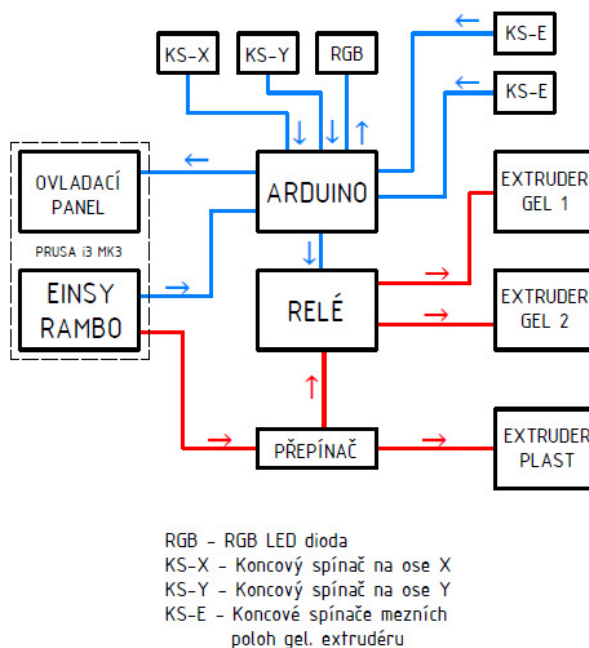
firmwarové úpravy mohou být minimální, případně žádné. V tomto případě není narušena funkčnost plastového tisku a firmware může být aktualizován dle potřeby.

Pro realizaci bylo zvoleno druhé řešení. K tiskárně je připojeno přídavné zařízení, které je od desky tiskárny elektronicky odděleno. Schéma jednotlivých komponent a komunikace mezi tiskárnou a přídavným zařízením je na Obr. 46.

Srdcem tohoto přídavného zařízení je deska Arduino UNO. Do této desky vstupují signály od koncových spínačů gelového extrudéru (extrudérů), od spínačů osazených na koncích os X a Y tiskárny. Dále pak tato deska přijímá signál z „virtuálního“ spínače, který je ovládán přímo pomocí řídicího G-kódu.

Z přídavného zařízení vychází signál, který může provádět virtuální stisky tlačítka na ovládacím panelu tiskárny. Uživatel získává informace o stavu tisku prostřednictvím RGB LED diody.

Silová část, tedy motor, je od této přídavné logiky oddělena. Uživatel má možnost přepnout mezi tiskem plastu a gelu mechanickým přepínačem. Jednotlivé gelové extrudéry je v průběhu tisku možné přepínat prostřednictvím relé. Tato relé jsou řízena prostřednictvím řídicího G-kódu.

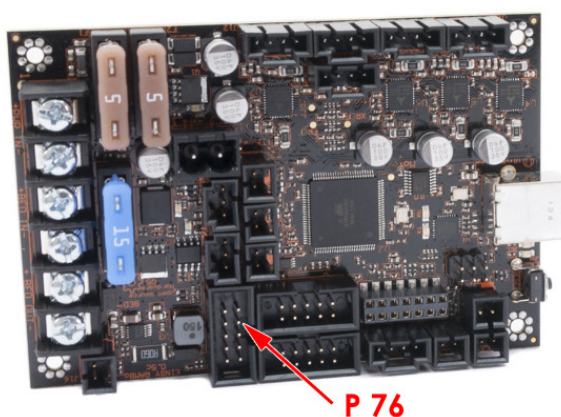


Obr. 46 Schéma el. zapojení jednotlivých komponent včetně toku signálů. Modrá barva – ovládací logika, červená barva – silové zapojení

10.1 Řídící deska tiskárny Prusa I3 MK3 Einsy-Rambo

Tiskárna Prusa I3 MK3 je řízena deskou Einsy-Rambo. Tato deska je založena na procesoru Atmega2560. Deska má v sobě integrovány drivery pro krokové motory a termistory pro teplotní regulaci trysky a podložky. Součástí jsou i veškeré konektory pro připojení veškerých periférií tiskárny.

„Virtuální“ spínač, je realizován pinem P76, jehož pozice je vyznačena na Obr. 47. Stav tohoto pinu, tedy, 0 (0 V) nebo 1 (5 V), je nastavitelný v průběhu tisku řídicím programem [52].



Obr. 47 Řídící deska Einsy-Rambo, tiskárny Prusa I3 MK3 s vyznačenm pinem P76 [53]

10.2 Volně programovatelná deska Arduino UNO

Arduino je open-source elektronická platforma založená na snadno použitelném hardwaru a softwaru. K řízení Arduina se používá „Arduino“ programovací jazyk. Programování samotné potom probíhá v softwaru Arduino IDE.

Pro zajištění funkčnosti gelového extrudéru je použita deska Arduino UNO (Obr. 48). Základní parametry této desky jsou uvedeny v Tab. 5. Tato deska je postavena kolem procesoru ATmega328P firmy Atmel [54].

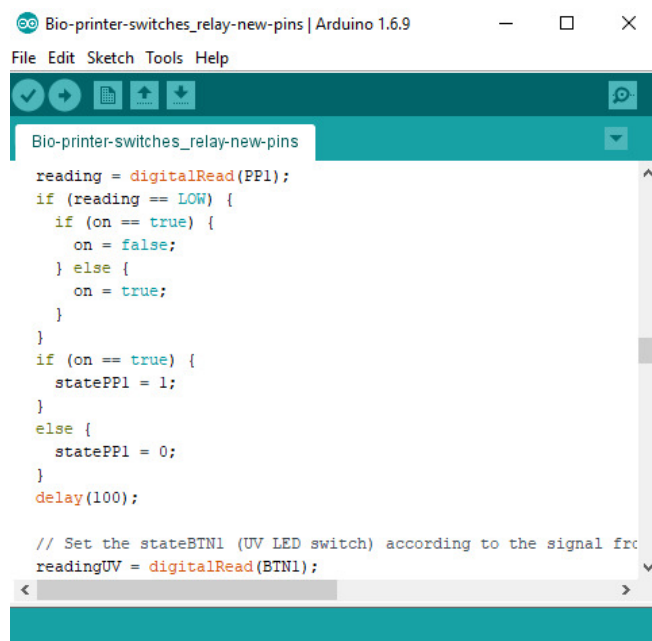


Obr. 48 Programovatelná deska Arduino UNO [54]

Tab. 5 Parametry desky Arduino UNO[54]

Parametr	Hodnota
Mikroprocesor	ATmega328P
Provozní napětí (logická úroveň)	5 V
Vstupní napětí (doporučeno)	7-12 V
Výstupní napětí (maximální meze)	6-20 V
Počet digitálních pinů	14, z toho 6 s PWM
Počet analogových pinů	6
Proudové zatížení na 1 pin	20 mA
Rozměry VxŠ, hmotnost	68,6x53,4 mm, 25 g

Arduino je řízeno programem napsaným v aplikaci Arduino IDE. Snímek z této aplikace s ukázkou řídicího programu je na Obr. 49. Tento program zjišťuje informace o stavu jednotlivých spínačů, vyhodnocuje a provádí příslušné akce, jako je spuštění UV LED, přepnutí gelových extrudérů nebo zastavení tisku.



Obr. 49 Programovací prostředí Arduino IDE s ukázkou řídicího programu

Soubor s programem je v příloze 1.6. V Tab. 6 jsou uvedeny použité piny na desce Arduino a jejich funkcionality. Nevyužité piny nejsou uvedeny.

Tab. 6 Popis využití pinů na desce Arduino UNO

Číslo pinu	Vstupní/výstupní	Funkce
2	IN	Koncový snímač gelového extrudéru
3	IN	Koncový snímač gelového extrudéru
4	OUT	Relé 4
5	OUT	Relé 3
6	OUT	Relé 2
7	OUT	Relé 1
9	OUT	Spínání UV LED
10	IN	Spínač na ose X
11	OUT	RGB LED- modrá
12	OUT	RGB LED- zelená
13	OUT	RGB LED- červená
A0	IN	Spínač na ose Y
A1	IN	Stav pinu P76 na tiskárně (Virtuální spínač)
A2	OUT	Virtuální stisk tlačítka

10.3 Rozšiřující desky pro k desce Arduino UNO

K deskám Arduino je nabízena široká škála rozšiřujících desek, takzvaných štítů (angl. Shield). Které mají stejný layout pinů jako desky Arduino a jejich připojení probíhá, bez nutnosti pájení, prostým nasazením. Existuje celá řada funkcí těchto desek od desky pro řízení motoru po desku s WiFi modulem. Tyto desky jsou zpravidla stohovatelné a je tedy možné je libovolně kombinovat. Pro účely řízení gelového extrudéru jsou použity dvě rozšiřující desky. Jedná se o reléovou rozšiřující desku a prototypovou rozšiřující desku.

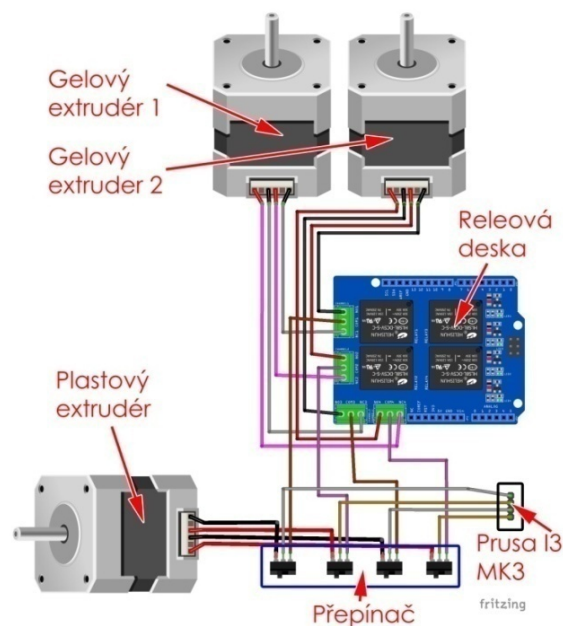
10.3.1 Reléová rozšiřující deska

První použitou rozšiřující deskou, která je připojena přímo do Arduino, je reléová deska od firmy Seed Studio (Obr. 50). Tato deska obsahuje 4 relé, která jsou říditelná prostřednictvím pinů 4-7 Arduino. Relé jsou použita pro přepínání mezi gelovými extrudéry.



Obr. 50 Reléová rozšiřující deska Seed Studio[55]

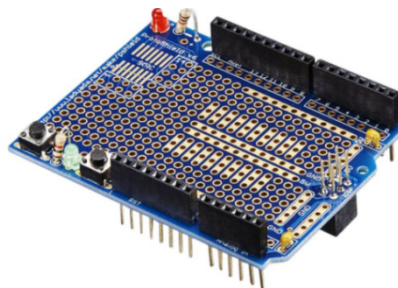
Návrh zapojení motorů gelových extrudérů s touto deskou byl vytvořen v programu Fritzing (Obr. 51). Vodiče motoru gelového extrudéru 1 jsou zapojeny do pozic NC (normálně zavřené) a vodiče motoru gelového extrudéru 2 do pozic NO (normálně otevřené). Na střední pozici je přes přepínač připojen signál z řídicí desky Einsy-Rambo.



Obr. 51 Zapojení krokových motorů s reléovou deskou

10.3.2 Prototypová rozšiřující deska

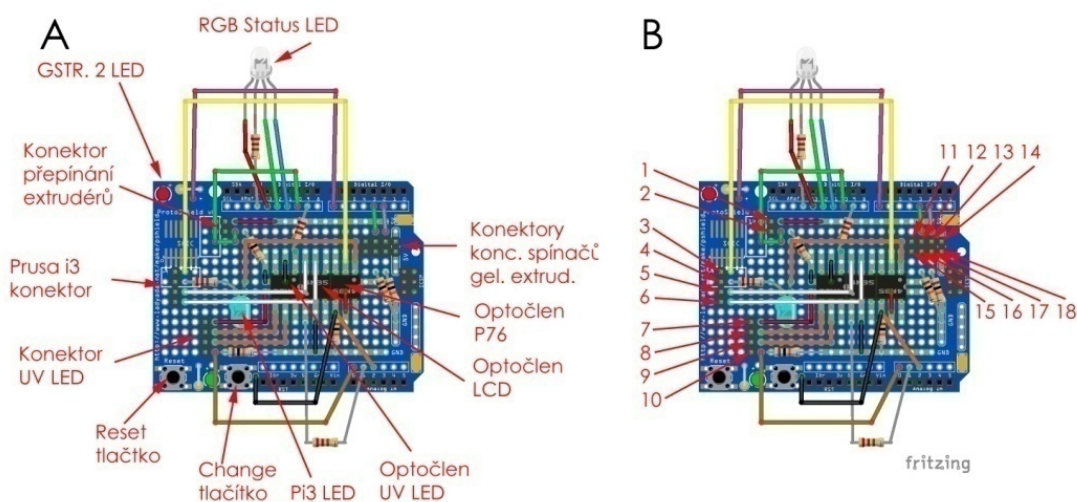
Druhou použitou rozšiřující deskou je prototypová deska od výrobce Adafruit (Obr. 52). Tato deska je zapojena do reléové desky a je zároveň poslední v sestavě.



Obr. 52 Prototypová rozšiřující deska Adafruit [56]

Prototypová deska obsahuje pájecí pole, do kterého je možné umístit komponenty dle potřeby. Na desce jsou předpřipraveny dvě tlačítka a dvě LED diody. V programu Fritzing byl vytvořen návrh tohoto osazení. Obr. 53 (A) zobrazuje komponenty osazené na prototypové desce. Konkrétně se jedná o RGB LED diodu ukazující stav tiskárny, Pi3 LED ukazující zapnutí tiskárny a GSTR2 LED ukazující zapnutí druhého gelového extrudéru. Dále pak tlačítka pro reset a změnu režimu tiskárny a konektory pro připojení externích spínačů. Označení jednotlivých pinů těchto konektorů je na Obr. 53 B, vysvětlení funkce pak v Tab. 6. Další osazenou komponentou jsou optočleny 4N35, tyto optočleny jsou zde použity pro realizaci elektronického oddělení obvodů tiskárny a

přídavného Arduina. „Optočlen P76“ realizuje snímání signálu „virtuálního“ spínače z desky Einsy-Rambo. „Optočlen LCD“ zajišťuje simulování stisků tlačítka na ovládacím panelu. Posledním optočlenem je „Optočlen UV LED“, tímto optočlenem je ovládán driver UV LED diody, který pracuje s napětím 12 V a proudem 500 mA.



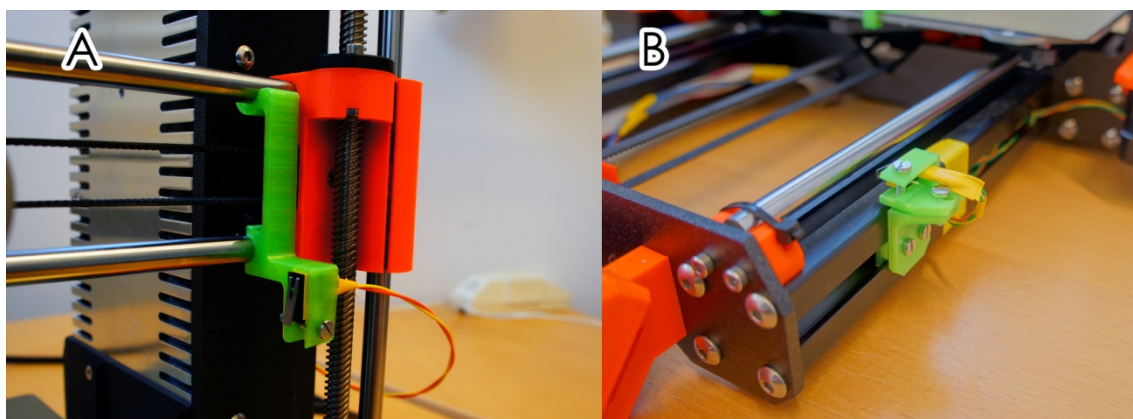
Obr. 53 Návrh osazení prototypové desky komponenty (A). Popis jednotlivých pinů pro připojení extreních spínačů (B)

Tab. 7 Popis funkce jednotlivých pinů osazené prototypové desky

Konektor	Pin	Funkce
Konektor přepínání extrudérů	1	Spínač osa X; signál
	2	Spínač osa X; zem
Prusa I3 konektor	3	Zemnicí pin desky Einsy-Rambo
	4	Signál pinu P76 z desky Einsy-Rambo
	5	Virtuální stisk tlačítka; signál
	6	Virtuální stisk tlačítka; zem
Konektor UV LED	7	Spínač osa Y; signál
	8	UV LED driver zem
	9	UV LED dálkové ovládání
	10	Spínač osa Y; zem
Konektory koncových spínačů gelových extrudérů	11, 15	Koncový spínač, gelový extrudér; signál
	12, 16	Koncový spínač, gelový extrudér; zem
	13, 17	Koncový spínač, gelový extrudér; zem
	14, 18	Koncový spínač, gelový extrudér; signál

10.4 Osazení tiskárny přídatnými spínači

Tiskárna je vedle koncových spínačů na gelovém extrudéru osazena spínači na koncích os X (Obr. 54 A) a Y (Obr. 54 B). Tyto spínače jsou umístěny na opačných koncích os, než je jejich nulová pozice. Umístění je voleno přibližně 5 mm od maximálních vysunutí os. Těto pozice se při běžném tisku nedosahuje, tudíž nehrozí nežádoucí stisk těchto spínačů. Spínače jsou umístěny v domcích a je možné nastavit jejich pozici podél příslušných os tiskárny.



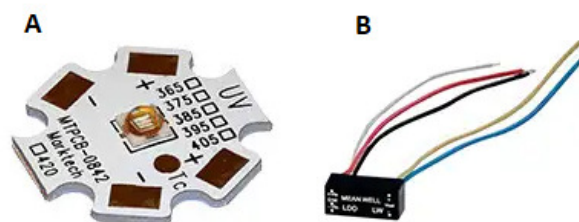
Obr. 54 Přídavné pínače na konci osy X (A) a na konci osy Y (B) tiskárny Prusa I3 MK3

Posledním spínačem je „virtuální“ spínač na řídící desce tiskárny Einsy-Rambo, pin P76. Stav tohoto spínače je ovládán v průběhu tisku řídicím programem.

10.5 UV LED pro zesíťování bio gelu

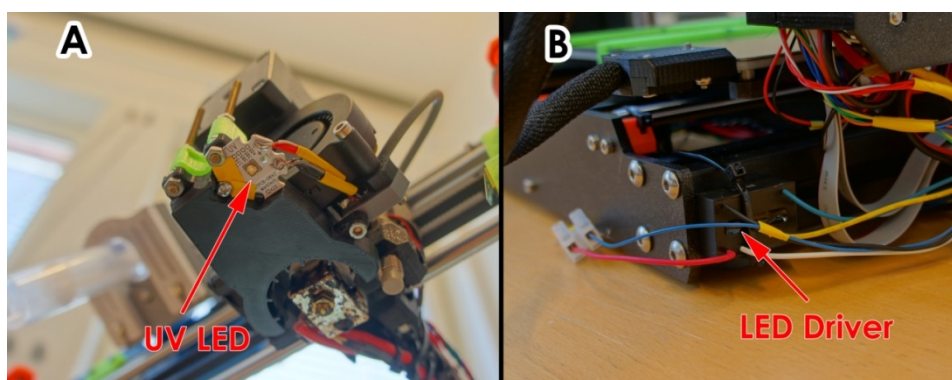
Pro zesíťování bio gelu je použita UV LED dioda typ MTSM365UV-D5120 s vlnovou délkou 365 nm od firmy Marktech Optoelectronics (Obr. 55 A). Tato dioda má pracovní napětí 3,6 V a odběr proudu 500 mA [57].

Pro řízení této diody je použit LED driver LDD 50LW od firmy MeanWell (Obr. 55 B). Jedná se o driver pracující na principu konstantního proudu, v tomto případě 500mA. Vstupní napětí je zde 12 V. Tento driver umožňuje dálkové spínání diody [58]. Toto spínání je realizováno „optočlenem UV LED“ na prototypové desce.



Obr. 55 UV LED MTSM365UV-D5120 (A), LED driver LDD 50LW (B) [57, 58]

Obr. 56 (A) zobrazuje UV LED diodu osazenou na tiskárně, a Obr. 56 (B) zobrazuje osazení driveru UV LED.



Obr. 56 Osazení UV LED (A) a LED driveru (B) na tiskárně

10.6 Modifikace tiskárny pro realizaci tisku bio gelu

Instalace a používání gelového extrudéru vyžaduje minimální hardwarové a firmwarové modifikace tiskárny. Je tedy zachována možnost tisku z plastu, včetně možnosti aktualizací firmwaru od výrobce tiskárny.

10.6.1 Modifikace firmware tiskárny

Firmware použitý pro řízení tiskárny Prusa I3 MK3 je firmware zvaný Marlin. Jde o open-source firmware používaný v RepRap tiskárnách. Vedle již zmíněné tiskárny Prusa I3 MK3 je využíván například i u tiskáren Ultimaker, Printrbot a Lulzbot.[8].

Navržené řešení vyžaduje minimální úpravy firmwaru tiskárny. Protože, funkce koncových snímačů, přepínání mezi gelovými extrudéry a ovládání UV LED diody je realizováno prostřednictvím přídatného Arduina. Úprava firmwaru je tedy koncipována tak, aby byla co nejjednodušší. Jelikož jsou eliminovány extensivní zásahy do kódu,

není zde problém s odlaďováním a aktualizacemi firmwaru potom, co výrobce uvolní novou verzi.

Myšlenka úpravy stojí na funkcionalitě ovládacího tlačítka tiskárny, které po dlouhém stisku (více než 3 s) vyvolá zkratku pro posuv osy Z [59].

Tato zkratka byla ve firmwaru nahrazena zkratkou pro ukončení tisku. Konkrétně v souboru *ultrald.ccp*. Ve smyčce „*voidmenu_lcd_longpress_func(void)*“ je nahrazena původní funkce posuvu osy Z „*menu_submenu lcd_move_z*“ za funkci přerušení tisku „*menu_submenu lcd_print_stop*“ (Obr. 57). Tato úprava je jediná v celém firmwaru a byla provedena podle návodu výrobce [60].

```
void menu_lcd_longpress_func(void)
{
    move_menu_scale = 1.0;
    menu_submenu lcd_print_stop); //menu_submenu lcd_move_z);
}
```

Obr. 57 Úprava firmwaru tiskárny

Tento dlouhý stisk ovládacího tlačítka je simulován přídavným Arduinem při dosažení koncové polohy gelového extrudéru, a tím dojde k ukončení tisku.

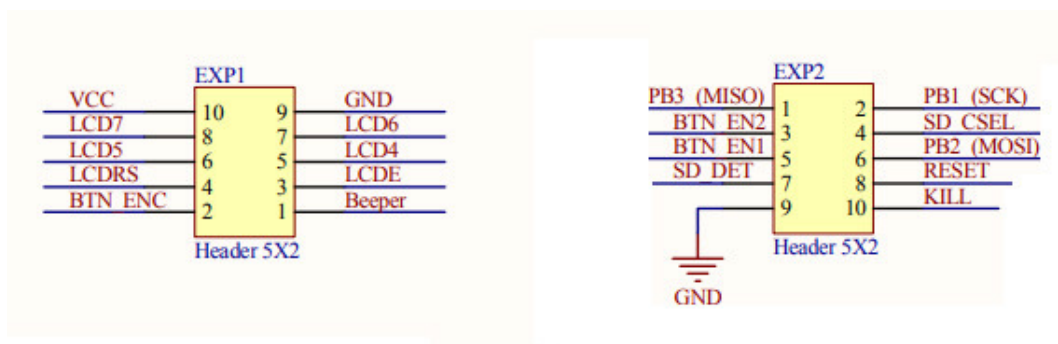
10.6.2 Modifikace hardware

Tiskárna Prusa I3 MK3 je vybavena ovládacím panelem „RepRapDiscount Full Graphic Smart Controller“ pro tisk bez použití PC.

Jde o plně grafickou jednotku, která obsahuje slot na SD kartu, display s rozlišením 128x64 bodů a otočný ovladač s funkcí tlačítka. Při stisku tohoto tlačítka je vytvořen spoj na krátko mezi vodičem tlačítka a zemí čímž je detekován signál [61].

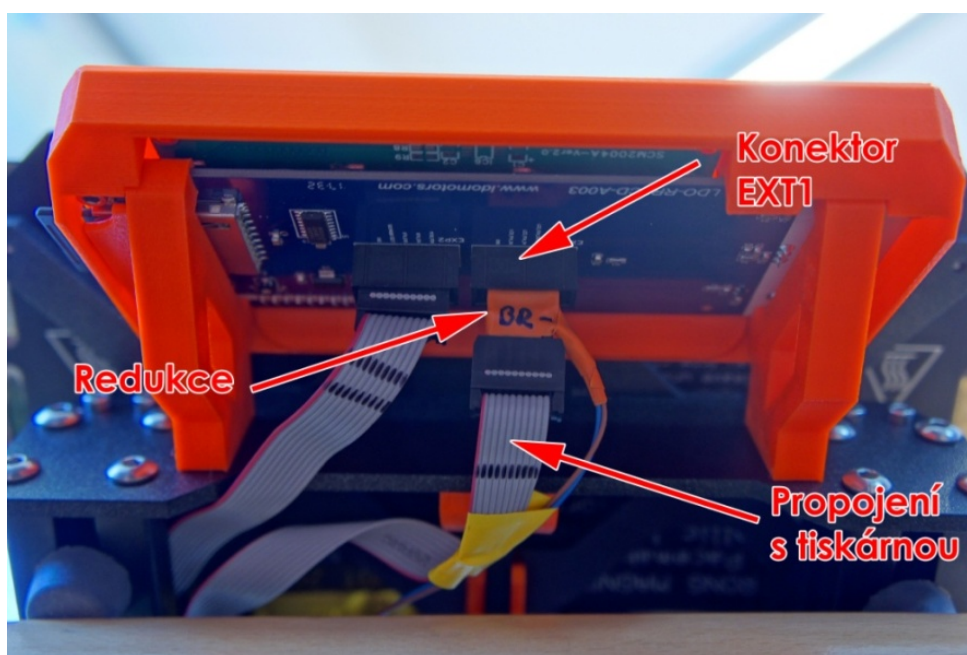
Tato jednotka je spojena s řídicí deskou Einsy-Rambo pomocí konektorů EXT1 a EXT2. Schéma těchto konektorů je na Obr. 58.

Vodič tlačítka je pin 2 (BTN_ENC) konektoru EXT1. Na tomto konektoru je i zemní pin 9 (GND).



Obr. 58 Schéma konektorů propojujících SmartController a tiskárnu Prusa I3 MK3 [61]

Pro realizaci simulace dlouhého stisku byla vytvořena redukce (Obr. 59), která k tlačítku paralelně připojuje prototypovou rozšiřující desku (kapitola 10.3.2, Obr. 53 a Tab. 7). Touto redukcí tedy dojde k propojení vodiče tlačítka (BTN_ENC) s pinem 5 prototypové desky. Zemní vodič (GND) je potom propojen s pinem 6 prototypové desky. Spojení těchto dvou vodičů, tedy stisk tlačítka, je realizován „optočlenem LCD“.



Obr. 59 Realizace zapojení dálkového ovládání tlačítka

Jak je zřejmé tato úprava je zcela vratná a nijak neomezuje použití tiskárny, potažmo tlačítka, při tisku jak z plastu, tak z gelu.

10.7 Funkcionalita přestavěné tiskárny pro tisk bio gelu

Tiskárna Prusa I3 MK3 spolu s přídatným Arduinem funguje ve třech režimech: „Ready, Printing a Total stop“. Funkcionalita těchto režimů je popsána v Tab. 8.

Tab. 8 Popis funkcionality tiskárny

RGB LED	Režim	Funkcionalita
Zelená	Ready	<p>Veškeré komponenty – koncové spínače gelových extrudérů, spínače na koncích os a UV LED jsou neaktivní. Stejně jako virtuální tlačítko ovládacího panelu.</p> <p>V tuto chvíli Arduino čeká na signál z „virtuálního“ spínače ovládaného řídicím programem. Toto stisknutí se děje vždy na začátku tiskové úlohy. Po obdržení tohoto signálu se Arduino přepne do režimu „Printing“.</p>
Modrá	Printing	<p>Veškeré spínače jsou aktivní, je možné přepínat gelové extrudéry a ovládat UV LED.</p> <p>V případě, že je sepnut koncový spínač jednoho z extrudérů, dojde k „virtuálnímu“ stisku tlačítka na řídicím panelu, a tím pádem k zastavení tisku a přepnutí do režimu „Total stop“.</p> <p>Na konci tiskové úlohy Arduino obdrží signál z „virtuálního“ spínače ovládaného řídicím programem. Po obdržení tohoto signálu se Arduino přepne do režimu „Ready“.</p>
Červená	Total stop	<p>Žádný ze spínačů není aktivní. Dojde zde k vypnutí UV LED a k výběru gelového extrudéru 1. Následně dojde k přepnutí do režimu „Ready“.</p>

Ovládání UV LED v režimu „Printing“ probíhá následovně. Při stisku spínače na konci osy Y tiskárny dojde k rozsvícení této diody. Při opětovném stisku dioda zhasne.

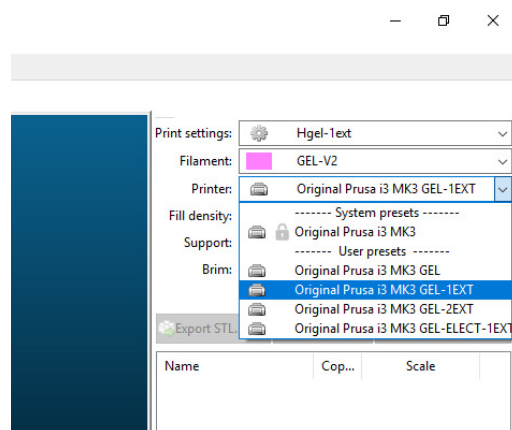
Systém přepínání gelových extrudérů je následující. Ve výchozím stavu je gelový extrudér 1 aktivní a gelový extrudér 2 neaktivní. Při stisku spínače na konci osy X tiskárny dojde k deaktivaci gelového extrudéru 1 a k aktivaci gelového extrudéru 2. Tento stav je indikován rozsvícením GSTR2 LED diody. Opětovným stiskem se systém vrátí do původního stavu.

11 Příprava dat a tisk bio gelu

Filosofie používání tiskárny s gelovým extruderem se neliší od používání originální tiskárny pro tisk plastových filamentů. Nejprve je potřeba z 3D modelu vygenerovat řídicí program a poté provést samotný tisk.

11.1 Program pro generování řídicího kódu - Slic3r PE

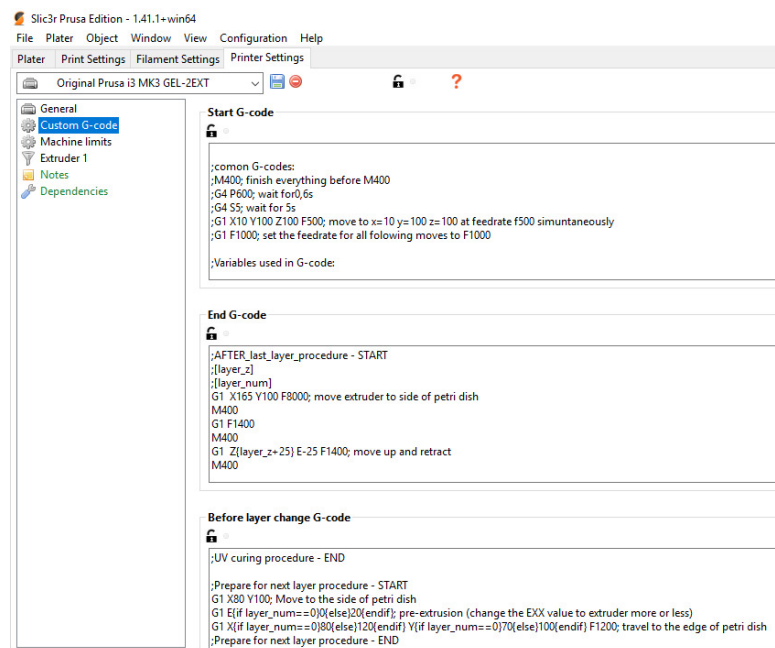
Řídicí program pro tiskárnu, G-kód, je generován pomocí programu Slic3r PE. Do tohoto programu byly vytvořeny tiskové profily s optimalizovanými parametry pro tisk bio gelu (příloha 1.4) Jedná se o tiskový profil tiskárny, filamentu a profil nastavení tisku. Tyto tiskové profily je možné vybrat z rozbalovací nabídky programu editovat a použít pro generování řídicího G-kódu (Obr. 60). Stejně, jako jakýkoliv jiný profil pro tisk plastových filamentů [59].



Obr. 60 Výběr tiskových profilů pro tisk gelu v programu Slic3r PE

Příložené tiskové profily jsou optimalizovány k tisku 2% HA+ 2% KC+ 2% FS hydrogelu.

Řízení stavu přídatného Arduina, stejně jako ovládání UV LED diody a přepínání mezi gelovými extrudéry, je řešeno vlastními sekvencemi řídicího G-kódu. Obr. 61 zobrazuje snímek obrazovky programu Slic3r PE s ukázkou těchto sekvencí. Tyto sekvence se propisují do každého řídicího programu vygenerovaného s daným nastavením [62]. V těchto sekvencích jsou využity příkazy, které jsou podporovány firmwarem Marlin a integrovány do tiskárny Prusa I3 MK3 [63].



Obr. 61 Ukázka vlastních sekvencí G-kódu v programu Slic3r PE

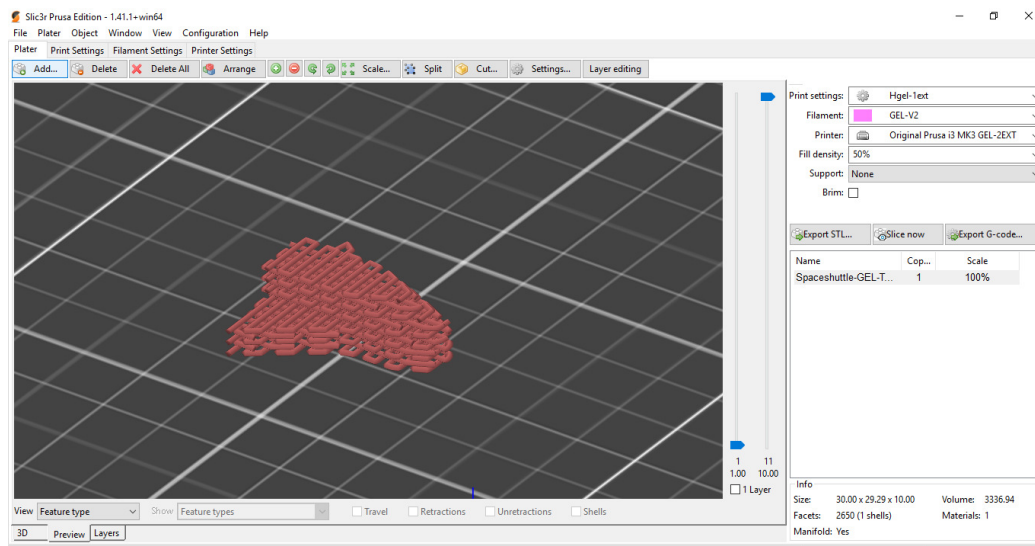
Například „virtuální“ stisky tlačítka k přepnutí režimu přídavného Arduina jsou realizovány kódem M42. Tímto kódem je možné nastavit hodnotu napětí na daném pinu. *M42 P76 S255*, nastaví 5 V na pinu P76. *M42 P76 S0*, nastaví 0 V na pinu P76 [64].

Přepnutí mezi extrudéry zajistí sekvence příkazů *G1 X230 – G X210*, tedy pohyb osy X ke spínači a následné oddálení. Pro zapnutí/vypnutí UV LED pak sekvence *G1 Y220 – G1 Y200*, tedy pohyb osy Y ke spínači a následné oddálení.

11.1.1 Generování řídicího kódu

Proces samotného generování řídicích programů se potom neliší generování řídicích programů pro tisk z plastových filamentů. Nejprve je třeba nahrát 3D model ve formátu „.stl“ do prostředí Slic3r PE, následně vybrat požadované tiskové profily, případně provést korekci parametrů. Na závěr pak jen vygenerovat kód a ten přes SD kartu přenést do tiskárny [59, 65].

Na Obr. 62 je zachycen snímek obrazovky programu Slic3r PE po vygenerování řídicího programu pro tisk raketoplánu z bio gelu.

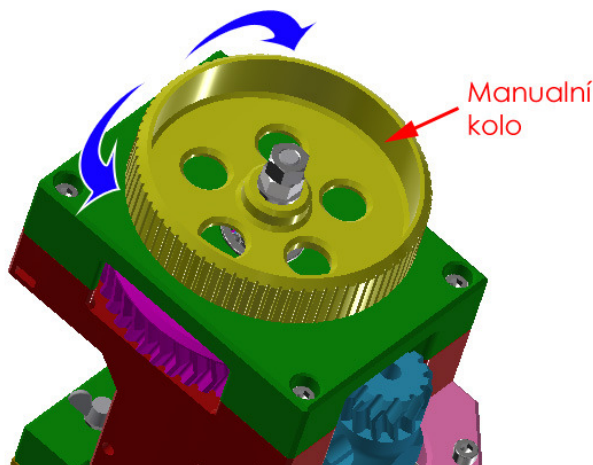


Obr. 62 Vygenerované tiskové vrstvy pro tisk bio gelu v programu Slic3r PE

11.2 Tisk bio gelu

Proces tisku bio gelu lze rozdělit na dvě části a to, upínání injekční stříkačky a tisk samotný.

Před zahájením tisku samotného, je nutné upnout injekční stříkačku s gelem do extrudéru. Proces tohoto upínání je popsán v kapitole 9.8 a zobrazen na Obr. 36. Pro úspěšné upnutí stříkačky, je zapotřebí upravit pozici slideru pro konkrétní objem gelu ve stříkačce. Sliderem je možné pohybovat jednak ručně, otáčením manuálního kola, které je spojeno se závitovou tyčí (Obr. 63). Tento přístup je vhodný zejména, když není potřeba se sliderem významně pohybovat, nebo pro jemné doladění pozice.



Obr. 63 Manuální kolo pro ruční pohyb slideru

Druhou možností je využití předpřipravených zaváděcích programů (příloha 1.5). Jedná se o upravené řídicí G-kódy, které jsou spustitelné jako běžná tisková úloha. Funkčnost těchto programů je následující: Dojde k inicializaci tisku, uživatel má možnost si vybrat který gelový extrudér chce zavádět. Následně dojde na základě zvoleného programu k pohybu slideru nahoru anebo dolů. Když je slider v požadované pozici uživatel dlouhým stiskem tlačítka na panelu tiskárny přeruší tisk a upne injekční stříkačku. Podrobný popis procesu zavádění je uveden v manuálu, který je v příloze 1.1.

Tisk samotný pak probíhá téměř stejně jako tisk z plastového filamentu. Rozdílem je vedle možnosti předčasného ukončení tisku při dosažení koncových poloh gelových extrudérů, funkčnost přepínání gelových extrudérů a operace UV LED.

12 Testování a optimalizace tiskových parametrů bio gelu

Testování tiskových parametrů bylo provedeno s 2% HA+ 2% KC+ 2% FS hydrogelem. Jako tryska byla použita injekční jehla o rozměru 18G. Gel byl před tiskem temperován na teplotu 30°C (což je teplota uvnitř anaerobního boxu).

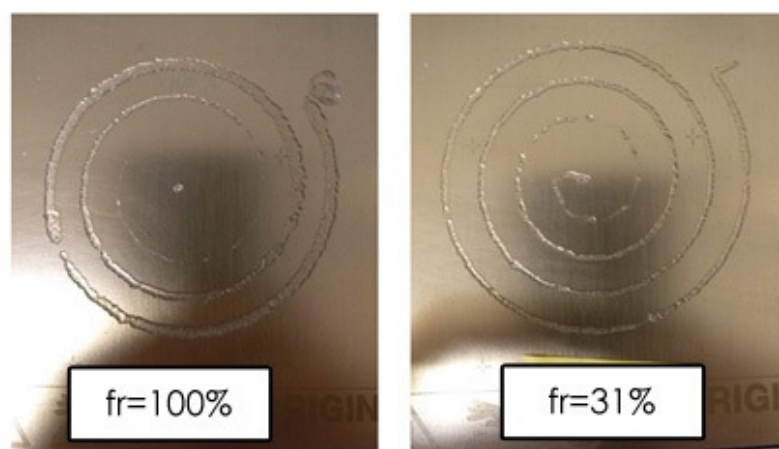
Před započítím testování byla provedena kalibrace gelového extrudéru tak, aby při požadavku o extruzi 10 mm filamentu se závitová tyč posunula o 10 mm. Výsledkem této kalibrace je přenastavení parametru tiskárny „steps/mm“ na hodnotu 2800. Originální hodnota pro tisk plastu u tohoto parametru je 280 [66].

Rychlost tisku pro testy i pro následné výtisky byla zvolena 20 mm/s. Tato rychlost se subjektivně při testech tiskárny jevila jako optimální. Při této rychlosti nedochází k prudkým pohybům podložky, a tím pádem bude usnadněno tisknutí na jiné předměty (grafitové elektrody, Petriho misky) i bez nutnosti jejich upínání.

Prvním provedeným testem bylo testování optimální hodnoty parametru „extrusion multiplier“. Tento parametr ovlivňuje množství vytlačovaného gelu v průběhu tisku a je ho možné nastavit v tiskových profilech programu Slic3r PE.

Jako testovací objekt byla zvolena spirála tvořena jednou čarou. Řídicí kód pro tuto spirálu byl vygenerován s parametrem „extrusion multiplier“ o hodnotě 0,35. Rychlost tisku byla zvolena 20 mm/s. Optimální parametr „extrusion multiplier“ byl potom zjištěn opakovaným tiskem, kdy byl vždy upraven parametr „flow rate“ na tiskárně. Tento parametr násobí parametr „extrusion multiplier“ a tím ovlivňuje množství

tisknutého gelu. Obr. 64 ukazuje spirálu tisknutou parametrem „flowrate“ 100 % a optimální nastavení které odpovídá parametru „flowrate“ 31 %.

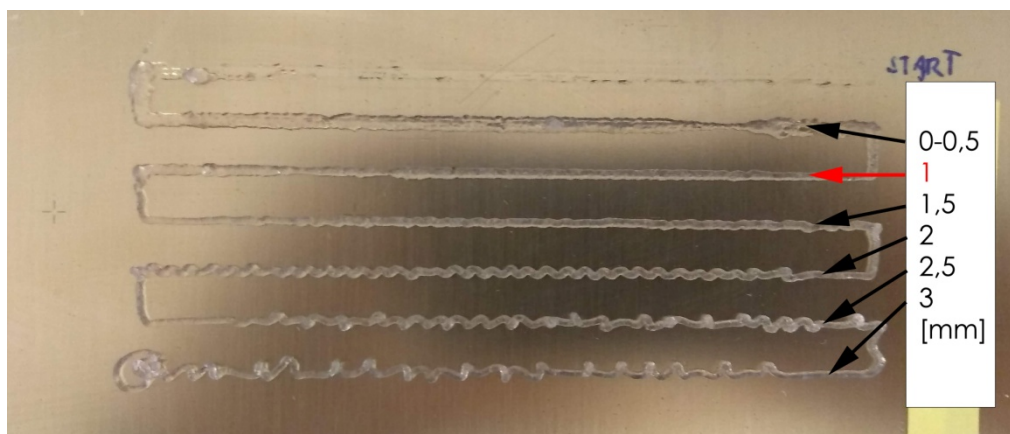


Obr. 64 Testování parametru flow rate pro nastavení optimálního parametru Extrusion multiplier

Výsledkem je tedy optimální parametr „extrusion multiplier“ pro nastavení do tiskového profilu dle rovnice 14.

$$Em_n = E_m * fr = 0,35 * 0,31 = 0,11 \quad (14)$$

Dále byla testována optimální výška vrstvy. Jako model pro tento test byla zvolena lomená čára. Řídící program byl vygenerován s parametrem „extrusion multiplier“ o hodnotě 0,11, rychlost tisku byla 20 mm/s. Program byl poté ručně upraven tak, aby se výška vrstvy postupně zvětšovala od 0-3 mm na vertikálních částech lomené čáry a zůstávala konstantní v horizontálním směru. Průběh tisku je ilustrován na Obr. 65.

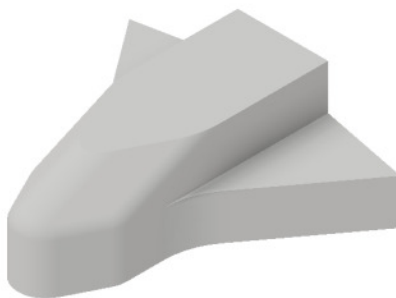


Obr. 65 Testování výšky vrstvy v rozmezí 0-3mm

Z obrázku je jasné patrné, že optimální výška vrstvy pro tisk s tryskou o rozměru 18G je 1mm. Při výšce vrstvy menší, než 1 mm dochází k rozšíření vytlačované vrstvy, která není uniformní. Výška vrstvy větší, než 1 mm vykazuje zvlnění čáry z důvodu příliš velké vzdálenosti mezi tryskou a podložkou. Přehled dalších tiskových parametrů včetně jejich doporučených hodnot je uveden v příloze 1.1.

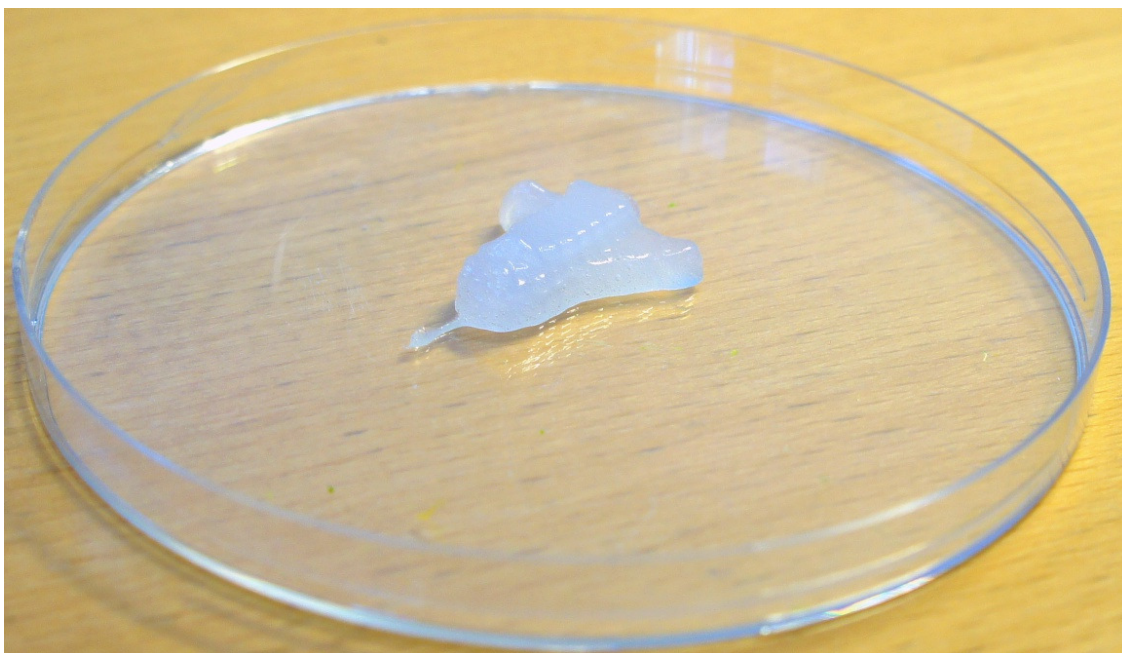
13 Realizované tisky bio gelu

Na tiskárně Prusa I3 MK3 upravené pro tisk bio gelu byly provedeny zkušební výtisky. Jako testovací model byl zvolen zjednodušený model raketoplánu (Obr. 66) o rozměrech 25x25x10 mm. Řídící program byl vygenerován v programu Slic3r PE s příslušnými tiskovými profily. Materiálem pro tisk byl 2 % HA+ 2 % KC+ 2 % FS hydrogel.



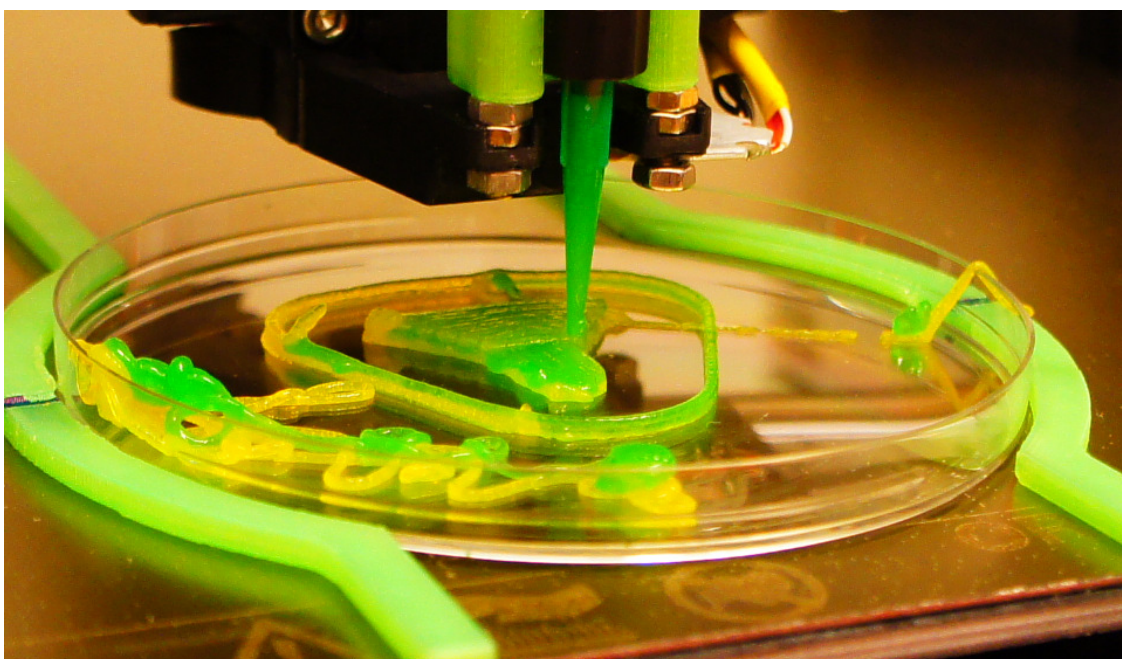
Obr. 66 3D model raketoplánu pro testovací tisky

Tisky raketoplánu byly provedeny do Petriho misek. Obr. 67 ukazuje vytištěný model tohoto raketoplánu z jednoho materiálu.



Obr. 67 Zkušební výtisk modelu raketoplánu z jednoho materiálu

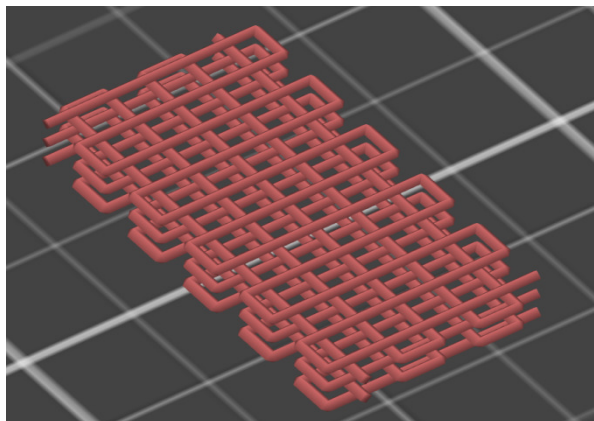
Obr. 68 potom zobrazuje průběh tisku dvěma materiály (zelený a žlutý hydrogel). Je zde vidět i rámeček tisku, kde probíhá výměna materiálů.



Obr. 68 Průběh tisku modelu raketoplánu ze dvou materiálů (žlutá a zelená)

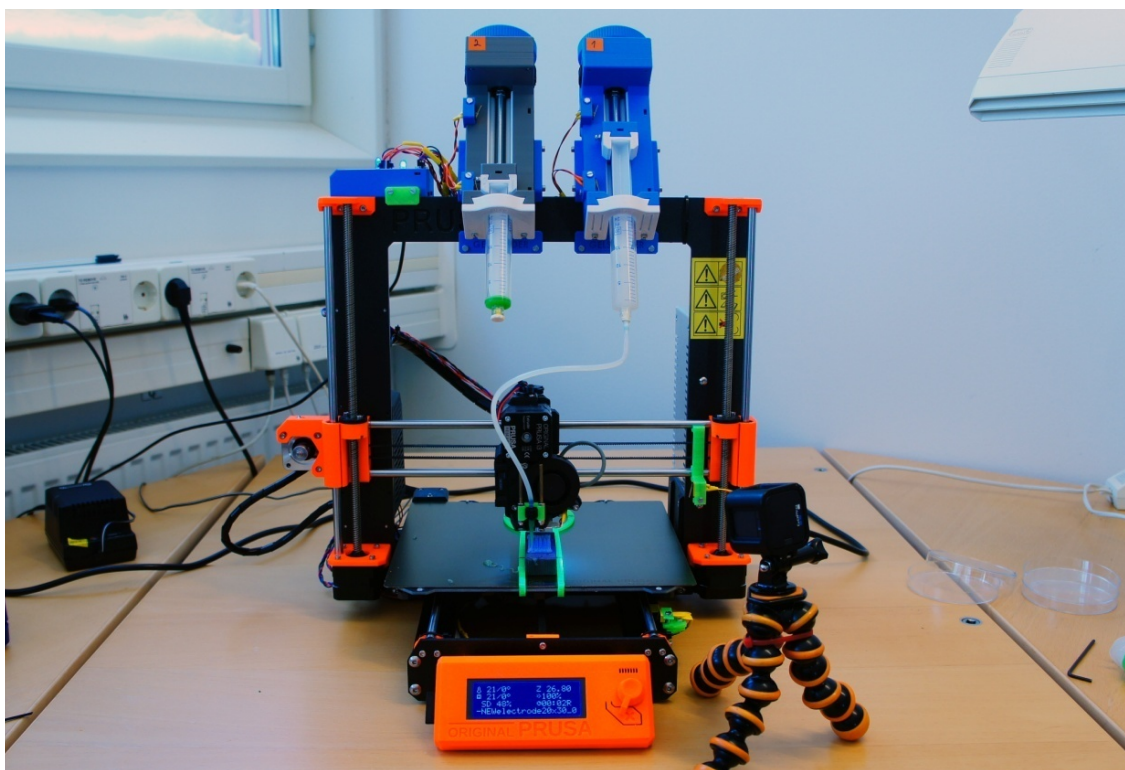
Byl proveden i zkušební tisk na povrch grafitové elektrody. Konkrétně se jedná o tisk prostorové struktury o rozměrech 20x30x5 mm. Obr. 69 zobrazuje tiskové dráhy v pěti

vrstvách, vygenerované v programu Slic3r PE. Materiálem pro tento zkušební tisk byl opět 2 % HA+ 2 % KC+ 2 % FS hydrogel.

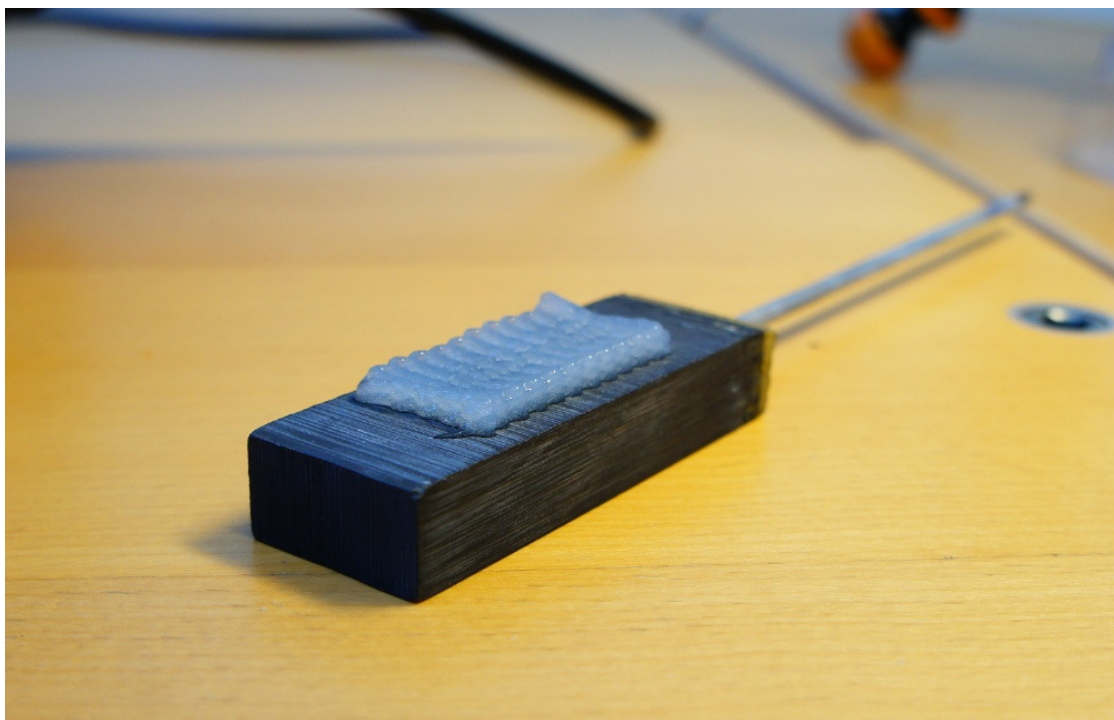


Obr. 69 Model prostorové struktury k tisku na povrch elektrody

Obr. 70 zobrazuje tiskárnu v průběhu tisku této struktury na grafitovou elektrodu. Tento tisk je dokumentován videozáznamem v příloze 1.2. Finální výtisk je potom zobrazen na Obr. 71. Jelikož materiál v době testovacího tisku neobsahoval metakrylátové skupiny, zesíťování materiálu UV LED diodou nebylo otestováno.



Obr. 70 Průběh tisku bio gelu na grafitovou elektrodu



Obr. 71 Relizovaný tisk na povrch grafitové elektrody

14 Závěr

Cílem této diplomové práce byl kompletní návrh řešení pro realizaci 3D tisku bio gelu. Navržené řešení se bude používat pro nanášení 3D struktur z hydrogelu na bázi kyseliny hyaluronové, obsahujícího živé bakterie *Geobacter sulfurreducens*, na povrch grafitových elektrod. Tyto bakterie jsou schopny využít oxidačně-redukčního potenciálu elektrody k produkci malých organických molekul, jako například etanolu. Produktivita a života schopnost takto imobilizovaných buněk bude následně zkoumána v bio-reaktorech.

Po seznámení se s problémem bylo definováno základní složení materiálu - hydrogelu (2 % HA + 2 % KC + 2 % FS) včetně předpokládaných přísad jako karbonových nano trubiček, metakrylátových skupin a již zmíněných bakterií. V souvislosti s materiálem byly definovány požadavky na technologii samotného 3D tisku. V tomto případě nebylo vyžadováno vyhřívání podložky ani trysky, ale byla vyžadována implementace UV světla pro zesíťování vytištěného gelu. Dalším požadavkem bylo udržení sterility tištěného materiálu a zajištění anaerobního prostředí pro tisk. V tomto případě tedy požadavek na umístění realizované tiskárny do anaerobního boxu.

Před návrhem samotným byla provedena rešerše technologií 3D tisku biologických materiálů, včetně jejich aplikací. Lze říct, že v současné době oblasti 3D bio tisku dominuje využití pro medicínské účely. 3D tisk bakterií není v současné době příliš rozšířen. Závěrečným bodem rešerše byl průzkum dostupných řešení pro 3D bio tisk. V zásadě jsou dostupné dvě kategorie těchto řešení. Jedním z nich jsou specializované komerční 3D bio tiskárny, které se ovšem vyznačují relativně velmi vysokou cenou. Druhou kategorií jsou FDM 3D tiskárny na plastový filament, osazené gelovými extrudéry, podle vlastních návrhů jednotlivých výzkumných skupin. Tato zařízení jsou cenově dostupnější, ovšem limitujícím faktorem je nutnost extensivní přestavby původní 3D tiskárny.

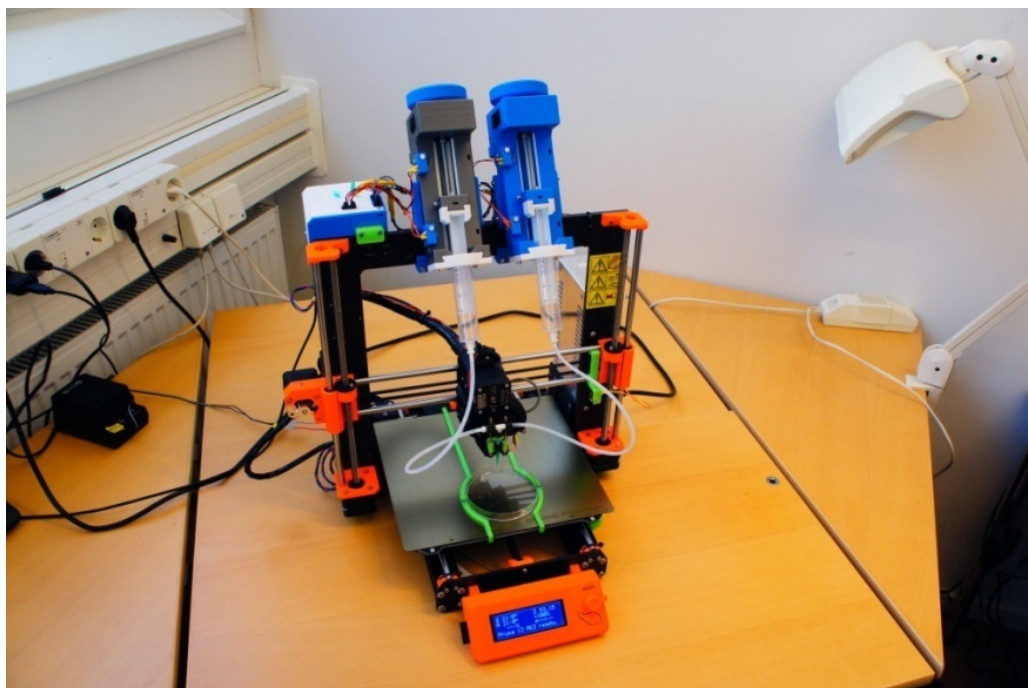
Na základě této rešerše a požadavků na technologii 3D tisku bylo rozhodnuto o přestavbě 3D tiskárny Prusa I3 MK3 na tisk bio gelu. Jedná se o open-source tiskárnu, která je snadno modifikovatelná a zároveň je cenově dostupná (20 000 Kč). Součástí tiskárny je i open-source programový balíček pro přípravu dat.

Přestavba 3D tiskárny byla provedena s důrazem na co nejmenší zásahy do samotné konstrukce a do firmwaru tiskárny. Bylo rozhodnuto o koncepci umístění dvou gelových extrudérů na rám 3D tiskárny. Tryska je potom umístěna na ose X 3D tiskárny, bez nutnosti demontáže původního extrudéru. Tento přístup tedy zachovává originální funkčnost 3D tisku z plastového filamentu. Z důvodu minimálních zásahů do firmwaru 3D tiskárny je pro řízení funkce gelových extrudérů a příslušenství (přepínání gelových extrudérů, funkčnosti UV LED diody) použito přídavné elektronické zařízení na bázi desky Arduino.

Jako zásobníky gelu jsou použity jednorázové sterilní injekční stříkačky o objemu 10 a 20 ml. Vedení gelu zajišťuje teflonová hadička, fitinky a plastová nebo nerezová tryska. Všechny zmíněné komponenty jsou sterilizovatelné v autoklávu. Tímto je tedy zajištěna stoprocentní čistota všech částí, které přijdou do styku s tisknutým materiálem.

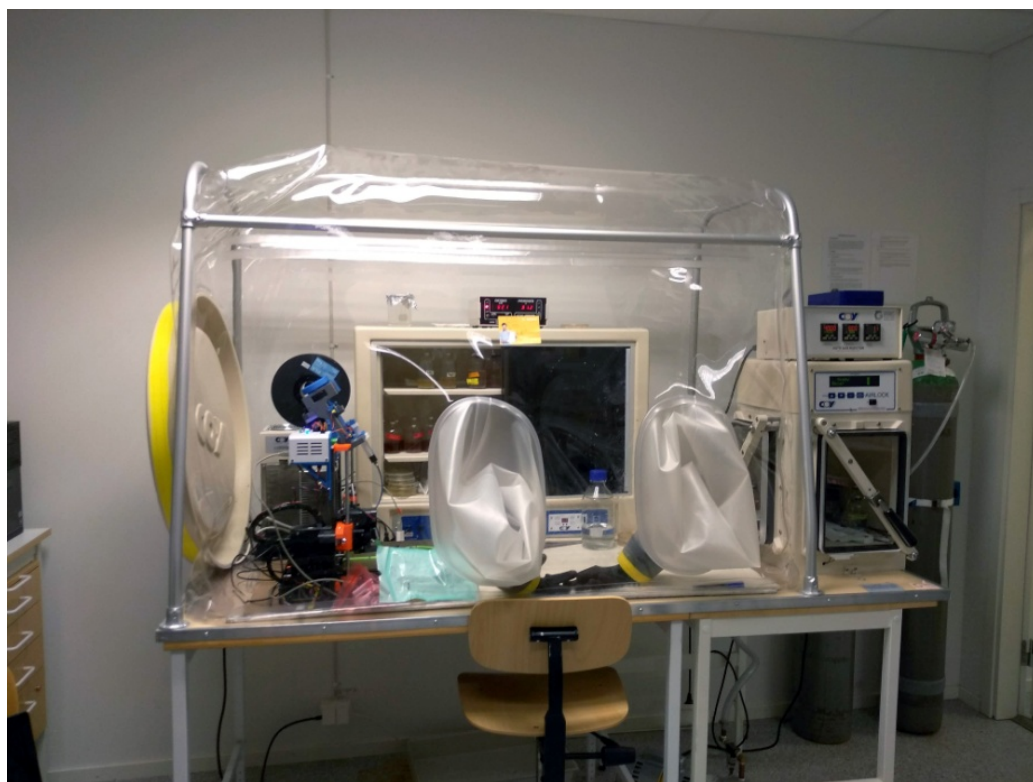
Velkou devízou navrženého zařízení je implementace koncových spínačů v mezních polohách gelového extrudéru. Při sepnutí těchto spínačů dojde k přerušení tisku, a nehrozí tak destrukce zařízení v případě, že dojde materiál v zásobníku. Na takto přestavěné tiskárně byly provedeny testy a optimalizace tiskových parametrů. Na základě těchto parametrů byly vytvořeny tiskové profily pro generování řídicích programů pro tisk z programu Slic3r PE. S těmito parametry byly úspěšně provedeny testovací tisky jak z jednoho, tak ze dvou materiálů. Současně byly vytvořeny programy pro automatické zavádění stříkaček do gelových extrudérů. Toto zavádění a upínání stříkaček bylo navrženo tak, aby bylo proveditelné bez použití nářadí.

Výsledkem je tedy realizované, samostatně fungující zařízení (Obr. 72), které maximálně využívá výhod 3D tiskárny Prusa I3 MK3 a rozšiřuje ji o uživatelsky přívětivou funkcionalitu tisku bio gelu, včetně softwarové podpory pro přípravu tiskových dat. Drtivá většina dílů použitých k přestavbě na gelový tisk je navržena pro výrobu metodou FDM 3D tisku. Přestavba, včetně všech nakupovaných dílů, vyšla odhadem na 5000 Kč. Mimo tuto konkrétní aplikaci, by bylo možné takto přestavěnou 3D tiskárnu využít k tisku de-facto jakéhokoliv materiálu s vlastnostmi pasty nebo gelu, (potravin, keramika, atd.) a pomoci tak s rozvojem těchto oborů.



Obr. 72 Realizovaná dvou extruderová tiskárna pro tisk bio gelu

Závěrečným krokem bylo umístění celého zařízení do anaerobního boxu (Obr. 73), kde bude probíhat tisk bio gelů obsahujících výše zmíněné živé bakterie.



Obr. 73 Tiskárna Prusa I3 MK, modifikovaná pro tisk bio gelu, v anaerobním boxu

Použitá literatura

- [1] XU, Yuanyuan, Xiaoyue WU, Xiao GUO, Bin KONG, Min ZHANG, Xiang QIAN, Shengli MI a Wei SUN. *The Boom in 3D-Printed Sensor Technology* [online]. 2017. ISBN 8675526036356. Dostupné z: doi:10.3390/s17051166
- [2] *HRE Performance Wheels* [online]. [vid. 2019-04-10]. Dostupné z: <https://www.hrewheels.com/wheels/concepts/hre3d>
- [3] ZELENÝ, Petr a Vojtěch RUŽICKA. THE DESIGN OF THE 3D PRINTER FOR USE IN GASTRONOMY. *MM Science Journal* [online]. 2017, **2017**(01), 1744–1747 [vid. 2019-04-10]. ISSN 18031269. Dostupné z: doi:10.17973/MMSJ.2017_02_2016187
- [4] SEOL, Young-Joon, Hyungseok LEE, Joshua S. COPUS, Hyun-Wook KANG, Dong-Woo CHO, Anthony ATALA, Sang Jin LEE a James J. YOO. 3D bioprinted biomask for facial skin reconstruction. *Bioprinting* [online]. 2018, **10**, e00028 [vid. 2019-04-10]. ISSN 2405-8866. Dostupné z: doi:10.1016/J.BPRINT.2018.E00028
- [5] *Přehled technologií 3D tisku | dkmp Nový Jičín, Ostrava* [online]. [vid. 2019-04-10]. Dostupné z: <http://www.dkmp.cz/o-nas/detail/Prehled-technologie-3D-tisku>
- [6] *geo-shape-3d-printing.jpeg (350×250)* [online]. [vid. 2019-04-10]. Dostupné z: <http://www.joskos.com/wp-content/uploads/2017/06/geo-shape-3d-printing.jpeg>
- [7] PRŮŠA, Josef a Michal PRŮŠA. *Základy 3D Tisku* [online]. Praha: Prusa Research s.r.o, 2014. Dostupné z: <https://www.prusa3d.cz/wp-content/uploads/zaklady-3d-tisku.pdf>
- [8] *What is Marlin? | Marlin Firmware* [online]. [vid. 2019-04-10]. Dostupné z: <http://marlinfw.org/docs/basics/introduction.html>
- [9] FERRIS, Cameron J., Kerry G. GILMORE, Gordon G. WALLACE a Marc IN HET PANHUIS. Biofabrication: an overview of the approaches used for printing of living cells. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2013, **97**(10), 4243–4258 [vid. 2019-03-31]. ISSN 0175-7598. Dostupné

z: doi:10.1007/s00253-013-4853-6

- [10] TRENFIELD, Sarah J, Atheer AWAD, Alvaro GOYANES, Simon GAISFORD a Abdul W BASIT. 3D Printing Pharmaceuticals: Drug Development to Frontline Care. *Trends in pharmacological sciences* [online]. 2018, **39**(5), 440–451 [vid. 2019-04-03]. ISSN 1873-3735. Dostupné z: doi:10.1016/j.tips.2018.02.006
- [11] MURPHY, Sean V a Anthony ATALA. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nature Biotechnology* [online]. 2014, **32**(8), 773–785 [vid. 2019-03-31]. ISSN 1087-0156. Dostupné z: doi:10.1038/nbt.2958
- [12] DERAKHSHANFAR, Soroosh, Rene MBELECK, Kaige XU, Xingying ZHANG, Wen ZHONG a Malcolm XING. 3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering: A review of recent trends and advances. *Bioactive Materials* [online]. 2018, **3**(2), 144–156. ISSN 2452199X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bioactmat.2017.11.008
- [13] ZHANG, Xiaoying a Yangde ZHANG. Tissue Engineering Applications of Three-Dimensional Bioprinting. *Cell Biochemistry and Biophysics* [online]. 2015, **72**(3), 777–782 [vid. 2019-03-30]. ISSN 1085-9195. Dostupné z: doi:10.1007/s12013-015-0531-x
- [14] BISHOP, Elliot S., Sami MOSTAFA, Mikhail PAKVASA, Hue H. LUU, Michael J. LEE, Jennifer Moriatis WOLF, Guillermo A. AMEER, Tong Chuan HE a Russell R. REID. 3-D bioprinting technologies in tissue engineering and regenerative medicine: Current and future trends. *Genes and Diseases* [online]. 2017, **4**(4), 185–195. ISSN 23523042. Dostupné z: doi:10.1016/j.gendis.2017.10.002
- [15] WILSON, W. Cris a Thomas BOLAND. Cell and organ printing 1: Protein and cell printers. *The Anatomical Record* [online]. 2003, **272A**(2), 491–496 [vid. 2019-03-30]. ISSN 0003-276X. Dostupné z: doi:10.1002/ar.a.10057
- [16] BARRON, Jason A., Bradley R. RINGEISEN, Heungsoo KIM, Barry J. SPARGO a Douglas B. CHRISEY. Application of laser printing to mammalian cells. *Thin Solid Films* [online]. 2004, **453–454**, 383–387 [vid. 2019-03-30]. ISSN 0040-6090. Dostupné z: doi:10.1016/J.TSF.2003.11.161

- [17] SEOL, Young-Joon, Hyun-Wook KANG, Sang Jin LEE, Anthony ATALA a James J. YOO. Bioprinting technology and its applications. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* [online]. 2014, **46**(3), 342–348 [vid. 2019-03-30]. ISSN 1010-7940. Dostupné z: doi:10.1093/ejcts/ezu148
- [18] HÖLZL, Katja, Shengmao LIN, Liesbeth TYTGAT, Sandra VAN VLIERBERGHE, Linxia GU a Aleksandr OVSIANIKOV. Bioink properties before, during and after 3D bioprinting. *Biofabrication* [online]. 2016, **8**(3), 032002 [vid. 2019-03-31]. ISSN 1758-5090. Dostupné z: doi:10.1088/1758-5090/8/3/032002
- [19] MALDA, Jos, Jetze VISSER, Ferry P. MELCHELS, Tomasz JÜNGST, Wim E. HENNINK, Wouter J. A. DHERT, Jürgen GROLL a Dietmar W. HUTMACHER. 25th Anniversary Article: Engineering Hydrogels for Biofabrication. *Advanced Materials* [online]. 2013, **25**(36), 5011–5028 [vid. 2019-03-31]. ISSN 09359648. Dostupné z: doi:10.1002/adma.201302042
- [20] WÜST, Silke, Marie E. GODLA, Ralph MÜLLER a Sandra HOFMANN. Tunable hydrogel composite with two-step processing in combination with innovative hardware upgrade for cell-based three-dimensional bioprinting. *Acta Biomaterialia* [online]. 2014, **10**(2), 630–640 [vid. 2019-03-31]. ISSN 1742-7061. Dostupné z: doi:10.1016/J.ACTBIO.2013.10.016
- [21] LEHNER, Benjamin A. E., Dominik T. SCHMIEDEN a Anne S. MEYER. A Straightforward Approach for 3D Bacterial Printing. *ACS Synthetic Biology* [online]. 2017, **6**(7), 1124–1130 [vid. 2019-03-31]. ISSN 2161-5063. Dostupné z: doi:10.1021/acssynbio.6b00395
- [22] HINTON, Thomas J., Quentin JALLERAT, Rachelle N. PALCHESKO, Joon Hyung PARK, Martin S. GRODZICKI, Hao-Jan SHUE, Mohamed H. RAMADAN, Andrew R. HUDSON a Adam W. FEINBERG. Three-dimensional printing of complex biological structures by freeform reversible embedding of suspended hydrogels. *Science Advances* [online]. 2015, **1**(9), e1500758 [vid. 2019-03-31]. ISSN 2375-2548. Dostupné z: doi:10.1126/sciadv.1500758
- [23] JESSOP, Zita M., Ayesha AL-SABAH, Matthew D. GARDINER, Emman COMBELLACK, Karl HAWKINS a Iain S. WHITAKER. *3D bioprinting for*

- reconstructive surgery: Principles, applications and challenges* [online]. 2017. ISSN 18780539. Dostupné z: doi:10.1016/j.bjps.2017.06.001
- [24] DUAN, Bin. *State-of-the-Art Review of 3D Bioprinting for Cardiovascular Tissue Engineering* [online]. 2017. ISBN 1573-9686 (Electronic)r0090-6964 (Linking). Dostupné z: doi:10.1007/s10439-016-1607-5
- [25] SCHAFFNER, Manuel, Patrick A. RÜHS, Fergal COULTER, Samuel KILCHER a André R. STUDART. 3D printing of bacteria into functional complex materials. *Science Advances* [online]. 2017, **3**(12). ISSN 23752548. Dostupné z: doi:10.1126/sciadv.aao6804
- [26] *The Top 10 Bioprinters - 3D Printing Industry* [online]. [vid. 2019-04-10]. Dostupné z: <https://3dprintingindustry.com/news/top-10-bioprinters-55699/>
- [27] GUILLEMOT, F., A. SOUQUET, S. CATROS, B. GUILLOTIN, J. LOPEZ, M. FAUCON, B. PIPPENGER, R. BAREILLE, M. RÉMY, S. BELLANCE, P. CHABASSIER, J. C. FRICAIN a J. AMÉDÉE. High-throughput laser printing of cells and biomaterials for tissue engineering. *Acta Biomaterialia* [online]. 2010, **6**(7), 2494–2500. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2009.09.029
- [28] MAHONEY, Grace. *Envision tec BioFabBooklet* [online]. Gladbeck: EnvisionTEC GmbH, 2018. ISSN 1557-7422. Dostupné z: doi:10.1089/hgt.2008.067
- [29] *3ders.org - Introducing CELLINK's BIO X, the „most user-friendly" 3D bioprinter | 3D Printer News & 3D Printing News* [online]. [vid. 2019-04-11]. Dostupné z: <https://www.3ders.org/articles/20170113-introducing-cellink-bio-x-most-user-friendly-3d-bioprinter.html>
- [30] *THE FUTURE OF MEDICINE IS HERE BIO X Booklet* [online]. Gothenburg: Cellink, 2018. Dostupné z: https://cellink.com/wp-content/uploads/2017/07/cellink_BioX_brochure36P.pdf
- [31] FITZSIMMONS, Ross EB, Mark S. AQUILINO, Jasmine QUIGLEY, Oleg CHEBOTAREV, Farhang TARLAN a Craig A. SIMMONS. Generating vascular channels within hydrogel constructs using an economical open-source 3D bioprinter and thermoreversible gels. *Bioprinting* [online]. 2018, **9**, 7–18

- [vid. 2019-04-11]. ISSN 2405-8866. Dostupné z: doi:10.1016/J.BPRINT.2018.02.001
- [32] *YouImagine – Replistruder v3.0 by T.J. Hinton – YouImagine* [online]. [vid. 2019-04-11]. Dostupné z: <https://www.youmagine.com/designs/replistruder-v3-0>
- [33] *Mini2 Bioprinter* [online]. [vid. 2019-04-11]. Dostupné z: <http://box5295.temp.domains/~thrdbiop/mini2-bioprinter/>
- [34] PUSCH, Kira, Thomas J. HINTON a Adam W. FEINBERG. Large volume syringe pump extruder for desktop 3D printers. *HardwareX* [online]. 2018, **3**, 49–61 [vid. 2019-04-02]. ISSN 2468-0672. Dostupné z: doi:10.1016/J.OHX.2018.02.001
- [35] *About us - Prusa3D - 3D Printers from Josef Průša* [online]. [vid. 2019-04-18]. Dostupné z: <https://www.prusa3d.com/about-us/>
- [36] *Original Prusa i3 MK3 je tady! A je pekelně chytrá! - Josef Prusa - 3D tisk a tiskárny Josef Prusa – 3D tisk a tiskárny* [online]. [vid. 2019-04-18]. Dostupné z: <https://josefprusa.cz/original-prusa-i3-mk3-je-tady-je-pekelně-chytrá/>
- [37] *Top 5 Design Tips for 3D printing* [online]. [vid. 2019-04-16]. Dostupné z: <https://www.onshape.com/cad-blog/top-5-tips-for-designing-for-3d-printing>
- [38] *NEMA Motor - RepRap* [online]. [vid. 2019-04-18]. Dostupné z: https://reprap.org/wiki/NEMA_Motor
- [39] *Tech | The difference between unipolar and bipolar stepper motors* [online]. [vid. 2019-04-18]. Dostupné z: <https://www.txplore.com/blog/16973/unipolar-bipolar-stepper-motors>
- [40] *2 Phase Hybrid Stepper Motor 17H2A series-Size 42mm(1.8 degree)* [online]. B.m.: MotionKing, 2015 [vid. 2019-04-18]. Dostupné z: https://www.elfa.se/Web/Downloads/_t/ds/17H2A_eng_tds.pdf
- [41] PEŠÍK, Lubomír. *Části strojů 2. díl*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2010. ISBN 978-80-7372-574-7.
- [42] *Šroubový zvedák* [online]. [vid. 2019-04-22]. Dostupné z: <http://sps.kvalitne.cz/>

- [43] VÁVRA, Pavel a Jiří LEINVEBER. *Strojnické tabulky*. Úvaly: Albra, 2011. ISBN 978-80-7361-081-4.
- [44] *Součinitel smykového tření - fyzikální tabulky součinitelů smykového tření* [online]. [vid. 2019-04-22]. Dostupné z: <http://www.converter.cz/tabulky/smykove-treni.htm>
- [45] *SKF Bearing Calculator* [online]. [vid. 2019-04-22]. Dostupné z: <http://webtools3.skf.com/BearingCalc/>
- [46] *THK Store-LG* [online]. [vid. 2019-04-18]. Dostupné z: <https://www.thkstore.com/products/linear-motion/guide-ball-bushings/lg.html>
- [47] *Uni-Guide Linear Slide System (D)* [online]. [vid. 2019-04-18]. Dostupné z: <https://www.pbclinear.com/Products/Gliding-Surface-Technology/D-Uni-Guide-Linear-Slide-System>
- [48] *Fluid Management Components | Nordson MEDICAL* [online]. [vid. 2019-04-18]. Dostupné z: [https://www.nordsonmedical.com/Shop/Fluid-Management/LuerFitting/All/All/1%2416'\(1.6mm\)/Nylon/?start=0&itemsPer=100](https://www.nordsonmedical.com/Shop/Fluid-Management/LuerFitting/All/All/1%2416'(1.6mm)/Nylon/?start=0&itemsPer=100)
- [49] *Norm-Ject Syringe, 20mL, Luer Lock, Plastic, PK100 8.30002046E9 | Zoro.com* [online]. [vid. 2019-04-18]. Dostupné z: <https://www.zoro.com/norm-ject-syringe-20ml-luer-lock-plastic-pk100-830002046e9/i/G2416587/>
- [50] *Soldering Tools and Equipment, Product Catalogue 2009* [online]. Chandlers Ford: Oki International, 2009. Dostupné z: https://www.elfa.se/Web/Downloads/54/12/900-NK_eng_tds.pdf
- [51] *ISO 80369-7:2016 - Small-bore connectors for liquids and gases in healthcare applications -- Part 7: Connectors for intravascular or hypodermic applications* [online]. [vid. 2019-04-18]. Dostupné z: <https://www.iso.org/standard/58011.html>
- [52] *EinsyRambo - RepRap* [online]. [vid. 2019-04-20]. Dostupné z: <https://reprap.org/wiki/EinsyRambo>
- [53] *Josef Průša představil v New Yorku novou verzi své 3D tiskárny - Prusa*

- Research s.r.o. – 3D tisk a 3D tiskárny od Josefa Průši* [online]. [vid. 2019-04-20]. Dostupné z: <https://www.prusa3d.cz/josef-prusa-predstavil-v-new-yorku-novou-verzi-sve-3d-tiskarny/>
- [54] *Arduino Uno Rev3* [online]. [vid. 2019-04-16]. Dostupné z: <https://store.arduino.cc/arduino-uno-rev3>
- [55] *Relay Shield v3.0 - Seeed Studio* [online]. [vid. 2019-04-20]. Dostupné z: <https://www.seeedstudio.com/Relay-Shield-v3-0.html>
- [56] *Adafruit Proto Shield for Arduino Unassembled Kit - Stackable [Version R3] ID: 2077 - \$9.95 : Adafruit Industries, Unique & fun DIY electronics and kits* [online]. [vid. 2019-04-20]. Dostupné z: <https://www.adafruit.com/product/2077>
- [57] *MTSM365UV-D5120S Marktech Optoelectronics | Optoelectronics | DigiKey* [online]. [vid. 2019-04-20]. Dostupné z: <https://www.digikey.cz/product-detail/en/marktech-optoelectronics/MTSM365UV-D5120S/1125-1371-ND/6575167>
- [58] *LDD-500LW MEAN WELL USA Inc. | Power Supplies - External/Internal (Off-Board) | DigiKey* [online]. [vid. 2019-04-20]. Dostupné z: <https://www.digikey.se/product-detail/en/mean-well-usa-inc/LDD-500LW/1866-3114-ND/7704765>
- [59] PRUSA, Josef. *3D PRINTING HANDBOOK, User manual for 3D printers: Original PRUSA i3 MK3 (KIT)* [online]. Praha: Prusa Research s.r.o, 2018. Dostupné z: https://prusa3d.com/downloads/manual/prusa3d_manual_mk3_en_3_04.pdf
- [60] *Firmware for Original Prusa i3 3D printer by PrusaResearch* [online]. [vid. 2019-04-20]. Dostupné z: <https://github.com/prusa3d/Prusa-Firmware>
- [61] *RepRapDiscount Full Graphic Smart Controller - RepRap* [online]. [vid. 2019-04-20]. Dostupné z: https://reprap.org/wiki/RepRapDiscount_Full_Graphic_Smart_Controller
- [62] *Slic3r Manual – Custom GCode Placeholder Reference* [online]. [vid. 2019-04-17]. Dostupné z: <https://manual.slic3r.org/advanced/placeholder-parser>

- [63] *Supported G-codes Prusa i3* [online]. [vid. 2019-04-01]. Dostupné z: <https://github.com/prusa3d/Prusa-Firmware/wiki/Supported-G-codes#prusa-codes>
- [64] *Gcode | Marlin Firmware* [online]. [vid. 2019-04-12]. Dostupné z: <http://marlinfw.org/meta/gcode/>
- [65] *Slicuj jako bůh! Průvodce začátečníka po Slic3r Prusa Edition - Josef Prusa - 3D tisk a tiskárny Josef Prusa – 3D tisk a tiskárny* [online]. [vid. 2019-04-12]. Dostupné z: <https://josefprusa.cz/slicuj-jako-buh-pruvodce-zacatecnika-slic3r-prusa-edition/>
- [66] *Extruder Calibration – 6 Easy Steps to Calibrate Your Extruder | All3DP* [online]. [vid. 2019-04-17]. Dostupné z: <https://all3dp.com/2/extruder-calibration-6-easy-steps-2/>

Přílohy

1. CD

- 1.1. Návod k použití gelového extrudéru
- 1.2. Video sekvence tisku bio gelu na elektrodu
- 1.3. Soubor .stl souborů pro 3D tisk dílů
- 1.4. Soubor tiskových profilů programu Slic3r PE pro gelový tisk
- 1.5. Soubor řídicích kódů pro zavádění stříkaček
- 1.6. Řídicí program desky Arduino UNO
- 1.7. Zpráva diplomové práce
- 1.8. Kompletní CAD model sestavy
- 1.9. Fotodokumentace realizovaného řešení
- 1.10. Výkresová dokumentace

2. Výkresová dokumentace

- | | | |
|------|------------------|------------------------|
| 2.1. | 4-KSA-VST2-00-00 | Přehled tištěných dílů |
| 2.2. | 3-KSA-VST2-01-00 | Prusa I3 MK3 GEL |
| 2.3. | 2-KSA-VST2-02-00 | Gelový extrudér |
| 2.4. | 4-KSA-VST2-02-12 | Slider |
| 2.5. | 3-KSA-VST2-03-00 | Držák trysky |
| 2.6. | 3-KSA-VST2-04-00 | Pouzdro elektroniky |
| 2.7. | 4-KSA-VST2-05-00 | Držák spínače osa Y |
| 2.8. | 4-KSA-VST2-06-00 | Držák spínače osa X |
| 2.9. | 4-KSA-VST2-07-00 | Podložka držák |